

SÉRIE A 239
N° D'ORDRE : 869

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

MAURICE LÉGER

LICENCIÉ ÈS SCIENCES NATURELLES

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LA STRUCTURE DES MUCORINÉES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues devant la commission d'examen



Le 12 Novembre 1895

MM. BONNIER *Président.*

MUNIER-CHALMAS. } *Examineurs.*
CHATIN. }

POITIERS

E. DRUINAUD, LIBRAIRE-ÉDITEUR

6, RUE DE LA MAIRIE, 6

1895

ACADÉMIE DE PARIS

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

MM.

Doyen.	DARBOUX	Géométrie supérieure.
Professeurs	DE LACAZE-DUTHIERS	Zoologie , Anatomie , Physiol. comparée.
	HERMITE	Algèbre supérieure.
	TROOST	Chimie.
	FRIEDEL	Chimie organique.
	TISSERAND	Astronomie.
	LIPPMANN	Physique.
	HAUTEFEUILLE	Minéralogie.
	BOUTY	Physique.
	APPELL	Mécanique rationnelle.
	DUCLAUX	Chimie biologique.
	BOUSSINESQ	Mécanique physique et expérimentale.
	PICARD	Calcul différentiel et calcul intégral.
	POINCARÉ	Calcul des probabilités, Physique mathém.
	YVES DELAGE	Zoologie , Anatomie , Physiol. comparée.
	BONNIER	Botanique.
	DASTRE	Physiologie.
	DITTE	Chimie.
	MUNIER-CHALMAS	Géologie.
	GIARD	Zoologie , Evolution des êtres organisés.
	WOLF	Astronomie.
Prof. adjoints.	CHATIN	Zoologie , Anatomie , Physiol. comparée.
	JOLY	Chimie.
	PELLAT	Physique.
	KÖENIGS	Cinématique.
	PAINLEVÉ	Calcul différentiel et cal- cul intégral.
Secrétaire	FOUSSEREAU	

RECHERCHES
SUR LA
STRUCTURE DES MUCORINÉES

INTRODUCTION

L'étude histologique des champignons a pris dans ces dernières années un développement considérable : nombre d'observateurs ont dirigé leurs recherches sur la structure intime de ces végétaux, dont presque toutes les familles sont aujourd'hui bien connues au point de vue de l'anatomie générale. Les *Urédinées*, les *Ustilaginées*, les *Ascomycètes*, les *Basidiomycètes*, ont été l'objet de nombreux travaux qui, récemment, nous ont donné sur ces différents groupes des notions nouvelles et précises.

Parmi les *Oomycètes*, qui, cependant, ont été étudiés par plusieurs auteurs, certaines familles semblent avoir été un peu délaissées ; c'est le cas surtout de la famille des *Mucorinées* : autant nous avons de renseignements sur la morphologie et le développement de ces champignons, autant nous manquons de connaissances sur leur structure histologique.

Une foule de botanistes nous ont appris à connaître et à cultiver les *Mucorinées* ; des méthodes rigoureusement scientifiques ont fixé, en les restreignant beaucoup, les limites dans lesquelles on pouvait admettre le polymorphisme de ces plantes ; les savants qui nous ont précédé dans ce genre d'études nous ont laissé bien peu de chose

à glaner : mais nous chercherions en vain un mémoire sur la constitution intime des *Mucorinées*. Comme nous le verrons plus loin, la littérature est fort pauvre sur ce sujet. Quelques lignes, quelques pages au plus, constituent les seuls documents, bien insuffisants, qui nous puissent renseigner. Non seulement nous manquons à cet égard d'un travail d'ensemble, mais nous pouvons avancer que pas une espèce n'a été l'objet de recherches approfondies et complètes.

On pourrait peut-être attribuer cet abandon de l'étude anatomique des *Mucorinées* aux nombreuses difficultés qui surgissent de tous côtés dans ce genre de recherches, et qui n'encouragent guère l'observateur. Tout d'abord, on ne se procure pas une espèce déterminée de ces champignons aussi facilement qu'on le désirerait : certes, ils ne sont pas rares, et en multipliant suffisamment des milieux de culture bien choisis, comme les excréments d'animaux, les fruits, etc., on arrive facilement, au bout de quelques jours, à posséder un vaste champ d'expérience dans un laboratoire. Mais toutes les espèces ne sont pas également propices aux investigations : telle de ces plantes forme facilement des zygospores, telle autre des chlamydospores, etc., et si l'on désire, par exemple, un type comme *Mucor racemosus*, pourvu normalement d'un grand nombre de chlamydospores, on est souvent forcé d'attendre qu'un heureux hasard fasse apparaître au milieu des cultures le champignon nécessaire aux observations. Dans d'autres cas, c'est tout un genre, une tribu tout entière de la famille qui peut manquer : c'est ainsi qu'il m'est arrivé de ne pouvoir me procurer, pendant plusieurs mois, aucune espèce de *Mortierella*, et cependant ce genre n'est pas absolument rare ; j'en ai ensuite rencontré plusieurs espèces sur le même milieu de culture. J'ajouterai que la détermination d'une espèce ne se fait pas toujours facilement : il est quelquefois nécessaire de cultiver longtemps la plante qu'on a trouvée, avant de pouvoir la spécifier.

Mais tout ceci ne constitue qu'un ensemble de difficul-

tés facilement surmontables : il suffit de s'armer d'un peu de patience, et l'on arrive presque toujours au but. Le principal obstacle consiste dans la façon dont on doit traiter ces champignons pour les étudier histologiquement, dans l'emploi de réactifs efficaces, dans le choix des différents modes de coloration, etc. ; en un mot, dans la technique. C'est, je pense, sur cet écueil qu'ont échoué la plupart des observateurs. Les *Mucorinées*, en effet, sont très difficilement accessibles aux colorations par les moyens ordinaires ; j'ai dû expérimenter un grand nombre de procédés, et l'exposé des différentes méthodes que j'ai adoptées doit constituer un chapitre spécial dans ce travail.

Je n'ai pas eu la prétention, quand j'ai commencé ces recherches, il y a deux ans, de découvrir ce que des prédécesseurs plus autorisés n'avaient pu voir ; j'ai voulu seulement essayer d'obtenir sur les *Mucorinées* quelques données un peu plus précises que celles qu'on possédait. J'ai pris des représentants de chacun des groupes qui constituent cette famille, et je les ai étudiés de la façon la plus complète que j'ai pu.

Voici donc le plan que j'ai cru devoir adopter pour exposer le résultat de mes recherches :

Après avoir donné dans un historique un aperçu de l'état de la question au moment où je l'ai abordée, j'indiquerai la technique et les procédés que j'ai suivis. J'exposerai ensuite l'étude histologique de chacune des espèces que j'ai observées ; puis je consacrerai un chapitre à l'étude de la germination des différentes sortes de spores. J'essaierai de généraliser, et d'étendre à la famille entière les différentes notions acquises dans l'étude de chaque type en particulier ; je m'efforcerai de mettre en évidence les conclusions générales les plus importantes qu'il sera possible de tirer de ce travail.

Je ne me dissimule point que des lacunes assez considérables n'ont pu être entièrement comblées, et qu'il reste encore beaucoup à faire sur ce sujet ; mais quelle est

la question dont on ne pourrait en dire autant? L'étude de genres et d'espèces autres que ceux que j'ai eus entre les mains pourra peut-être donner des notions nouvelles; j'ai cru toutefois qu'ayant examiné un certain nombre des représentants les plus variés de la famille, je pouvais tenter de faire une sorte de synthèse en réunissant et en comparant les matériaux que j'avais obtenus, et présenter ainsi les principaux caractères histologiques des *Mucorinées*.

Qu'il me soit permis d'exprimer ici toute ma reconnaissance à M. Dangeard, professeur à la Faculté des sciences de Poitiers, qui a bien voulu guider mes premiers pas : les conseils éclairés de ce maître m'ont été d'un grand secours au début de ces recherches.

HISTORIQUE

Je n'ai point à m'occuper ici des innombrables travaux dont les *Mucorinées* ont été l'objet, au point de vue morphologique, depuis plus d'un siècle. Pour ne point m'écarter de mon sujet, je veux seulement exposer les quelques notions très vagues qui nous ont été fournies jusqu'ici sur leur structure.

L'étude des genres que je passerai en revue comprendra d'ailleurs une nomenclature rapide des principaux ouvrages où il est parlé de chacun d'eux. Je pense, cependant, qu'il est bon d'indiquer quelques mémoires fort importants qui ont, depuis vingt-cinq ans, opéré une véritable révolution dans les idées qu'on avait de ces champignons, et qui doivent servir de base et de modèle à tous les observateurs.

C'est depuis 1872 seulement qu'il a été permis aux botanistes d'avoir une juste notion de la famille des *Mucorinées*, sur laquelle les opinions les plus contradictoires avaient jusqu'alors été émises : l'indépendance absolue des genres qui constituent cette famille n'avait pas encore été démontrée, et l'on admettait assez généra-

lement un polymorphisme ramenant à une origine presque unique un certain nombre de genres et d'espèces pourtant très différents les uns des autres. On allait même plus loin : on arrivait à émettre l'hypothèse que des champignons appartenant à des groupes très éloignés des *Mucorinées* devaient être identifiés avec certains *Mucor*. C'est ainsi que, dans ses « Recherches anatomiques et physiologiques sur les champignons », M. Carnoy (1) admet qu'une Mucorinée qu'il nomme *Mucor romanus* et qui n'est autre que *Phycomyces nitens* (2), peut se transformer successivement en levure, en *Penicillium*, en *Botrytis*, etc.

C'est en suivant les mêmes errements que M. Klein (3) affirme, deux ans plus tard, que des spores de *Philobolus* donnent naissance à des *Mucor* de plusieurs espèces, lorsqu'on les sème sur du jus de pruneaux ou de fruits sucrés.

M. Carnoy et M. Klein commettaient ainsi une grave erreur, dont le motif résidait exclusivement dans l'impureté de leurs semis : et cependant, plusieurs années auparavant, MM. De Bary et Woronine (4) avaient montré combien il est nécessaire de faire des cultures sur porte-objets, et de suivre pas à pas le développement d'une espèce, depuis le moment où les spores sont semées, jusqu'à celui où les fructifications apparaissent.

Toutefois ces derniers botanistes, sans admettre encore un polymorphisme aussi étendu que celui dont j'ai parlé plus haut, confondaient à cette époque plusieurs espèces de *Mucor* qu'ils identifiaient avec *Mucor Mucedo*, ainsi

(1) J.-B. Carnoy, *Recherches anatomiques et physiologiques sur les champignons* (Bulletin de la Société royale de Botanique de Belgique, t. IX n° 2, décembre 1870, p. 157-321 avec 9 planches).

(2) D'après MM. Van Tieghem et Le Monnier (Ann. des sciences natur., 1873).

(3) J. Klein, *zur Kenntniss des Pilobolus* (Jahrbücher für Wiss. Botanik. VIII, Heft 3 juin 1872, 3^e partie, Pléomorphie, p. 362-376).

(4) De Bary et Woronine, *zur Kenntniss der Mucorinen* (Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze, 2^e série 1866, p. 13).

que *Thamnidium elegans* Link, *Chaetocladium* Fræs, etc.

Ainsi, jusqu'en 1872, l'opinion de beaucoup d'observateurs les plus autorisés, ramenait à un nombre de types très restreint la plupart des genres et des espèces de la famille des *Mucorinées*. Les auteurs qui devaient le plus contribuer à détruire ces notions erronées, MM. Brefeld, Van Tieghem et Le Monnier (1) partageaient eux-mêmes jusqu'à un certain point cette manière de voir, au moins en ce qui concerne l'identification de *Mucor mucedo* avec *Thamnidium* et *Chaetocladium*.

Mais vers la fin de 1872, M. Brefeld (2) à Leipzig, et MM. Van Tieghem et Le Monnier (3) à Paris, proclamaient presque simultanément l'indépendance absolue des espèces et des genres. C'était l'éclosion d'une ère nouvelle pour l'étude des *Mucorinées*. M. Brefeld montrait que *Mucor mucedo* et *Chaetocladium Jonesii* sont deux genres parfaitement différents et qu'il est impossible de confondre, en apportant dans les recherches les précautions suffisantes : pourtant ce botaniste semble ne s'être servi que de porte-objets découverts et placés sous une cloche dans une atmosphère humide : mais, ainsi que le font remarquer MM. Van Tieghem et Le Monnier (4), en multipliant suffisamment les semis, il est parvenu à éliminer certaines causes d'erreur.

C'est à ces derniers savants que revient l'honneur d'avoir indiqué pour l'étude si difficile et si délicate des *Mucorinées*, une méthode rigoureusement scientifique, qui permit de réduire à un minimum idéal les chances de confusion que leurs devanciers n'avaient point comprises, ce qui les avait conduits à des déductions aussi fantai-

(1) V. Journal de l'Institut, 13 mars 1872, et Comptes rendus de l'Académie des sciences, t. LXXIV, 8 avril 1872.

(2) Brefeld, *Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze* (*Mucor mucedo*, *Chaetocladium Jonesii*, *Piptocephalis* Fresen). Leipzig, août 1872.

(3) Ph. Van Tieghem et G. Le Monnier, *Genre Circinella*, mémoire lu au congrès de Bordeaux, 9 septembre 1872, et *Recherches sur les Mucorinées* (Annales des sciences naturelles, 5^e série, t. 17, 1873).

(4) Ph. Van Tieghem et G. Le Monnier, *ibid.*, p. 275.

sistes que paradoxales. MM. Van Tieghem et Le Monnier ont montré les avantages des cultures en cellule, procédé qu'ils employèrent les premiers, qu'ils appliquèrent à l'étude des *Mucorinées*, et qui depuis a rendu tant de services pour toutes les recherches de ce genre.

Ce système, qui consiste à suivre le développement complet d'une spore déterminée semée dans un milieu nutritif absolument isolé, élimine toute cause d'erreur, et permet d'arriver à des résultats précis. Ces auteurs ont pu ainsi étudier un certain nombre de genres et d'espèces dont ils ont indiqué les caractères avec une rigueur inconnue jusqu'à eux. Cependant MM. Van Tieghem et Le Monnier ont, dans leurs considérations générales sur la famille, émis certaines idées un peu exagérées et énoncé quelques règles qui souffrent, comme on l'a montré depuis, trop d'exceptions pour qu'on puisse les ériger en principes. C'est ainsi qu'ils admettent que la spore sexuée, d'origine double, la zygosporé, ne forme jamais de mycelium en germant, mais produit toujours directement un appareil reproducteur asexué.

M. Van Tieghem, reprenant ces recherches en 1875 (1), fit précéder la description d'un certain nombre de types nouveaux, d'une remarquable étude de « Quelques propriétés générales des *Mucorinées* ». L'illustre savant fit ainsi connaître les mouvements du protoplasma chez ces plantes, la cicatrisation des blessures et l'occlusion spontanée du protoplasma au moyen des cloisons, et montra la formation et le rôle des cristalloïdes de mucorine : leur forme y est décrite avec une exactitude scrupuleuse, mais M. Van Tieghem ne les a pas vus dans la zygosporé nouvellement formée, et les considère comme des produits inutiles ou nuisibles éliminés par le protoplasma. Nous aurons à revenir sur cette interprétation dans le courant de cette étude.

(1) Ph. Van Tieghem, *Nouvelles recherches sur les Mucorinées* (Annales des sciences naturelles, 6^e série, t. I^{er}, 1875).

En 1876, le même auteur (1), dans un troisième mémoire, fait connaître un certain nombre de détails intéressants sur le mode de germination des spores et des zygosporos, admettant que celles-ci donnent naissance à un mycelium ou à un appareil fructifère, suivant les milieux dans lesquels elles germent. Il montre également que les appareils reproducteurs mutilés peuvent se cicatriser et former des sporules capables de donner un nouveau mycelium.

Si les trois mémoires que je viens de citer ne touchent que par quelques côtés au sujet que je me suis proposé de traiter, ils n'en constituent pas moins, pour l'étude des *Mucorinées*, à quelque point de vue qu'on se place, un guide indispensable, plein de renseignements précieux : le nombre et la précision des observations qu'ils contiennent, les considérations judicieuses dont celles-ci sont accompagnées, font de ces trois ouvrages le monument le plus important que possède la littérature sur l'histoire des *Mucorinées*.

Quelques années plus tard, en 1883 et 1884, M. Bainier (2) publiait une série d'observations sur le même sujet, et montrait quelles sont les conditions les plus favorables à la formation des zygosporos dans cette famille : la question d'ailleurs est loin d'être vidée, et le champ reste encore ouvert aux discussions.

Parmi les auteurs dont je viens de mentionner les travaux, aucun ne nous donne de renseignements précis sur la structure de ces Champignons : à peine trouve-t-on quelques mots sur le protoplasma et sur les membranes. Je crois donc pouvoir dire que j'entre dans une voie nouvelle en abordant ce sujet. Voici d'ailleurs exactement tout ce qu'on en sait :

(1) Ph. Van Tieghem, *Troisième mémoire sur les Mucorinées* (Annales des sciences naturelles, 6^e série, t. IV, 1876).

(2) G. Bainier, 1^o *Observations sur les Mucorinées* (Annales des sciences naturelles, 6^e série, t. XV, 1883; — 2^o *Sur les zygosporos des Mucorinées* (ibid); 3^o *Nouvelles observations sur les zygosporos des Mucorinées* (Annales des sciences naturelles, t. XIX, 1884).

En 1879, Schmitz (1), dans ses recherches sur les noyaux des Thallophytes, effleure la question en déclarant qu'il a observé, chez *Mucor racemosus* et chez *Chaetocladium Jonesii*, que le protoplasma, en traînées pariétales, renferme de nombreux noyaux disposés d'une façon régulière. Il montre également la présence de noyaux dans les spores bourgeonnantes de *Mucor racemosus*, ainsi que dans les spores ordinaires où il n'en a trouvé qu'un seul : les spores de *Chaetocladium Jonesii*, d'après lui, en contiendraient un plus grand nombre (4 à 7).

En 1887, M. Vuillemin (2), dans une série de notes biologiques sur les Champignons, donne une assez large part aux *Mucorinées* dont il décrit plusieurs espèces nouvelles. Il voit des noyaux dans le protoplasma de *Pilobolus ædipus* et de *P. Kleinii*. D'après M. Vuillemin, « chaque spore contiendrait souvent plus d'un noyau, deux, parfois trois ou quatre ».

Cet auteur donne ensuite quelques détails sur la constitution de quelques espèces nouvelles de *Mucor* ; il soupçonne la présence de noyaux dans la Zygosporangie de *M. heterogamus*, mais n'a pu la constater d'une façon certaine. M. Vuillemin décrit également les enveloppes de la zygosporangie dans cette même espèce, et montre quelques détails de structure de la membrane du sporangie et des filaments chez *Sporodinia grandis*. Il est d'ailleurs inutile d'analyser ici plus complètement ce mémoire, que nous aurons à citer plusieurs fois dans ce travail.

En 1891, M. Alfred de Wèvre (3) essaie d'étudier le noyau des *Mucorinées* et le recherche chez *Phycomyces ni-*

(1) Schmitz, *Untersuchungen über die Zellkerne der Thallophyten* (Verhandlungen der naturhistorische Vereines der Preussischen Rheinlande. Bonn, 1879, 4^e série, 6).

(2) Paul Vuillemin, *Etudes biologiques sur les Champignons* (Bulletin de la Société de Nancy, série II, t. VIII, fascicule xx, 1886). Nancy, 1887.

(3) Alfred de Wèvre, *Le noyau des Mucorinées* (Bulletin de la Société royale de botanique de Belgique, t. XXX, 1891, première partie).

tens, *Thamnidium elegans* *Rhizopus nigricans*, *Chaetocladium Fresenii*, et *Pilobolus crystallinus*. Mais les résultats exposés par cet observateur sont très douteux, et les figures qui accompagnent cette note ne donnent pas la moindre idée de ce qui existe en réalité. D'ailleurs M. de Wèvre n'a rien trouvé dans certaines espèces telles que *Rhizopus nigricans* et *Pilobolus crystallinus*, où, comme nous le démontrerons plus tard, les noyaux abondent comme partout ailleurs dans les *Mucorinées*.

Voilà donc où en était la question au moment où j'ai entrepris ce travail.

M. Dangeard, qui, depuis plusieurs années déjà, s'est livré, à diverses reprises, à l'étude histologique des Champignons (1), ayant eu l'amabilité de me faire profiter de son expérience quand je commençai ces recherches, les résultats ne se firent pas attendre.

Au bout de quelques mois, nous publiions ensemble un première note (2), où nous montrions la structure des noyaux des *Mucorinées*, ainsi que les variations qu'elle présente, la distribution de ces éléments dans le thalle, et leur disposition pendant la formation du sporange et des spores. Nous constatons également que les renflements qui doivent se fusionner pour former les zygosporos, contiennent de nombreux noyaux.

Quelques semaines plus tard (3), nous établissions la structure de la zygospore, et les modifications qu'elle subit pendant son développement ; toutefois, cet exposé, étant donnée l'extrême difficulté du sujet, contenait forcément des lacunes et quelques inexactitudes, que mes recherches personnelles ultérieures ont, en partie du moins, comblées ou rectifiées.

(1) P.-A. Dangeard. *Le Botaniste* (1890-1895).

(2) P.-A. Dangeard et Maurice Léger, *Recherches sur la structure des Mucorinées* (comptes rendus de l'Académie des sciences, 19 fév. 1894).

(3) P.-A. Dangeard et Maurice Léger, *La reproduction sexuelle des Mucorinées* (ibid. 5 mars 1894).

Dernièrement enfin (1), j'ai montré les transformations successives du protoplasma dans la famille des *Mucorinées*, et j'exprimais cette idée générale qu'il a la même constitution et se transforme d'une façon identique dans tous les organes de ces plantes, mycelium, filaments sporangifères, spores, zygosporos, chlamydosporos, etc.; j'indiquais également un état intéressant des noyaux dans les filaments et les columelles âgés.

Ce mémoire n'est autre chose que l'exposé détaillé des faits qui ont été énoncés d'une façon très résumée et succincte dans ces différentes notes; j'y ajouterai d'ailleurs, chemin faisant, un certain nombre d'observations nouvelles.

TECHNIQUE

Les difficultés qu'on éprouve à étudier histologiquement les *Mucorinées* sont de deux sortes : la première consiste dans le choix des réactifs colorants, la seconde dans le traitement des différents organes de ces plantes, quand elles sont âgées et que leur développement est complet. Ces deux obstacles sont presque complètement supprimés quand on a à étudier des individus jeunes, dont les membranes minces se laissent facilement pénétrer par les substances colorantes; dans ce cas, en effet, la plupart des réactifs d'un usage courant trouvent une application avantageuse. Mais lorsqu'on a des échantillons âgés, dont les membranes se sont épaissies, avec des spores mûres ou des zygosporos à enveloppe cutinisée, il faut employer des procédés spéciaux, dont il peut être bon de donner ici la description.

Je dois faire remarquer tout d'abord que le meilleur agent de fixation pour ces plantes est l'alcool : il n'est pas nécessaire qu'il soit absolu, l'alcool à 95° ou même à 90°

(1) Maurice Léger, *Recherches histologiques sur le développement des Mucorinées* (ibid. 18 mars 1895).

étant parfaitement suffisant. Il n'y a pour ainsi dire jamais de contraction et je transporte directement les échantillons de l'alcool dans les réactifs colorants sans leur faire subir aucun lavage. Ce procédé extrêmement simple m'a toujours donné de meilleurs résultats que tous les autres dont on peut lire les détails dans les traités spéciaux (1), et qui sont en général beaucoup plus compliqués.

Je n'insisterai pas sur les divers colorants dont on peut se servir couramment pour l'étude des champignons (2), et dont on peut appliquer l'usage aux *Mucorinées* : les picro-carmins et l'hématoxyline restent toujours les réactifs de choix. Nous verrons dans quelles conditions on doit les employer.

Un moyen excellent de coloration dont on se sert souvent en bactériologie, et qui trouve ici son application quand il s'agit de plantes jeunes, consiste dans l'emploi du bleu d'aniline, et surtout de la fuchsine. Ce système a l'avantage d'être extrêmement rapide, car en quelques minutes l'opération est terminée. Je préfère la fuchsine pour la netteté des colorations obtenues : on commence par se procurer de l'eau anilinée d'après la méthode connue, c'est-à-dire en additionnant un volume quelconque d'eau d'un dixième environ d'huile d'aniline ; on agite fortement le mélange, et l'on filtre à travers un papier mouillé. On met une certaine quantité du liquide dans un verre de montre, et l'on ajoute quelques gouttes d'une solution alcoolique de fuchsine. L'eau anilinée peut servir pendant deux ou trois jours quand on a le soin de la garantir de la lumière ; puis on retire de l'alcool les objets à examiner, et on les passe directement dans le colorant ; deux minutes au plus suffisent pour obtenir une coloration intense : on lave rapidement à l'alcool absolu, et on monte

(1) Strasburger, *Das botanische Practicum*. Iéna.

(2) P.-A. Dangeard, *Recherches histologiques sur les champignons* (Le Botaniste, 2^e série 1890-91).

dans le baume du Canada. Si l'on trouve la coloration trop forte, il suffit de prolonger un peu le lavage à l'alcool. Ce procédé rapide et très simple donne d'excellents résultats pour les échantillons jeunes.

Il convient d'ailleurs de faire remarquer que son principal avantage est la rapidité, mais que les résultats obtenus sont inférieurs à ceux que procurent les picro-carmins et l'hématoxyline. Parmi les picro-carmins, j'accorde la préférence à celui de Weigert. On obtient avec ce réactif de très bonnes colorations en y laissant séjourner les objets à examiner pendant un laps de temps de douze à vingt-quatre heures : je me suis toujours servi de cette substance absolument pure, et j'ai remarqué que, dans la plupart des cas, les noyaux se détachaient avec beaucoup de netteté sur le protoplasma coloré en rouge. Ce réactif doit être préféré à la fuchsine, bien que son action soit plus lente.

J'ai expérimenté l'hématoxyline sous bien des formes : je me suis d'abord servi de cette substance à l'état de cristaux : on en jette dans un verre de montre, rempli d'eau ordinaire, une très petite quantité, il se produit une coloration rougeâtre qu'on fait facilement tourner au bleu en projetant dans le liquide quelques petits cristaux d'alun (1). Ce mode de préparation qui paraît donner les résultats les plus favorables avec la plupart des champignons, ne m'en a fourni que de très médiocres pour les *Mucorinées*. J'emploie plus volontiers les teintures, et parmi celles-ci, de préférence celles de Grenacher et de Böhmer : en ajoutant à ces colorants un peu de phénol ou d'acide acétique, on peut avoir de splendides préparations. Voici comment on procède : on remplit environ aux deux tiers un verre de montre avec de l'hématoxyline de Grenacher à laquelle on ajoute à peu près un quart d'acide phénique : on agite fortement le mélange dans lequel on plonge les objets à examiner, sortis de l'alcool.

(1) P.-A. Dangeard, *loc. cit.*

Un séjour de vingt-quatre heures dans le réactif est presque toujours suffisant ; mais quand on veut examiner des parties difficiles à imprégner comme des spores mûres, par exemple, il ne faut pas craindre de les laisser tremper pendant quarante-huit heures et même plus longtemps encore. Il y a d'ailleurs avantage à obtenir des colorations intenses ; on a toujours la ressource, quand la teinte est trop foncée, et que le fond des préparations est trop sombre, de les décolorer, en les traitant par l'acide phénique pur, jusqu'à ce qu'elles aient repris la clarté et la netteté désirables. La décoloration exige un temps très variable suivant les cas.

Les résultats auxquels on arrive par ce procédé sont souvent excellents ; mais il offre plusieurs inconvénients : le premier est l'irrégularité. Il n'est pas rare qu'avec le même mélange mis dans deux verrés de montre, on ait des colorations très différentes en laissant séjourner les coupes pendant le même temps ; dans un cas on aura une teinte violet acajou très belle, et les moindres détails seront admirablement indiqués ; dans l'autre verre de montre, des échantillons de la même plante, du même âge, etc., prendront un aspect tout autre, et seront salis par un dépôt bleuâtre d'hématoxyline, qui se produira dans tous les coins de la préparation. C'est donc un réactif très délicat à manier. Un autre inconvénient encore plus grave, c'est que les préparations ainsi colorées ne peuvent pas se conserver. Il est nécessaire, en effet, d'examiner les objets dans l'acide phénique, milieu dans lequel la décoloration se fait très rapidement, en trois ou quatre jours ; les préparations montées au baume du Canada se conservent bien plus longtemps, mais sont beaucoup moins belles.

J'ai mis souvent en pratique un mode de double coloration très avantageux, qui consiste dans l'emploi du réactif précédent et du picro-carmin. M. Dangeard et moi (1)

(1) P.-A. Dangeard et Maurice Léger, *Recherches sur la structure des Mucorinées et la reproduction sexuelle des Mucorinées* (loc. cit.).

avons pu démontrer la présence de noyaux dans les zygosporées des *Mucorinées* à un moment du développement où nous n'avons jamais pu les découvrir par aucun autre moyen. Nous laissons séjourner les préparations pendant dix-huit heures dans le picro-carmin, puis nous les transportons directement dans l'hématoxyline de Grenacher additionnée de 75 0/0 environ d'acide phénique : les objets retirés au bout de vingt minutes étaient examinés dans l'acide phénique. Le protoplasma prend une teinte violette sur laquelle les noyaux, dont le nucléole garde une couleur rouge, se détachent admirablement. Mais, dans ce cas encore, les préparations doivent être considérées comme sacrifiées, car on ne peut les conserver que quelques jours.

Le réactif auquel j'ai définitivement accordé la préférence est l'hématoxyline de Böhmer, à laquelle j'ajoute quelques gouttes d'acide acétique. Les filaments entiers ou les coupes, après avoir été plongés dans le liquide pendant un ou plusieurs jours, se colorent en violet acajou, comme si on les avait traités par l'hématoxyline phéniquée; mais la coloration est beaucoup plus régulière, et les noyaux sont extrêmement nets. Si la teinte obtenue est trop foncée, il suffit de laver, pendant quelques minutes, à l'acide acétique, les préparations qui reprennent toute la clarté désirable : on les déshydrate en les passant successivement dans des alcools de degrés de plus en plus élevés, puis dans l'alcool absolu ; et on les monte enfin dans le Baume du Canada où elles peuvent se conserver longtemps.

Il est nécessaire d'indiquer maintenant les différentes manières dont il faut traiter les *Mucorinées* pour en faire une bonne étude histologique. D'une façon générale, les organes jeunes doivent être examinés sans modification préalable, car la pénétration des réactifs se fait facilement à travers leurs fines membranes. Mais, pour les plantes âgées, on doit employer la méthode de l'écrasement ou celle des coupes. La première rend surtout de grands ser-

vices pour l'étude des spores ordinaires dans lesquelles on ne peut pas faire de sections ; la seconde m'ayant toujours donné de meilleurs résultats, je la considère comme le véritable procédé de choix pour ce genre de recherches.

Quand on a pratiqué des coupes soit dans les filaments, soit dans les sporanges, soit surtout dans les zygosporés où l'utilité s'en fait le plus sentir, la plus grande difficulté est surmontée, les membranes cellulosiques ou cutinisées ne peuvent plus s'opposer à la pénétration des colorants. On ne peut se dissimuler que c'est une opération très délicate, que de faire des coupes dans des tubes très fins ou dans des zygosporés dont les plus grandes atteignent des dimensions de quelques dixièmes de millimètre au plus : aussi faut-il avoir recours à l'inclusion. Parmi tous les genres d'inclusion exposés dans les traités classiques, un seul, l'inclusion dans le collodion, m'a amené à de bons résultats. La paraffine ne m'a rien donné de convenable : il y a en effet trop de différence entre la résistance offerte au rasoir par la paraffine, et celle beaucoup plus considérable qu'opposent les membranes cutinisées des zygosporés. Cet inconvénient n'existe plus avec le collodion qui, lorsque l'inclusion est bien faite, se coupe sous le rasoir comme du cartilage et fait absolument corps avec les objets inclus : l'homogénéité de résistance est presque absolue, et l'on n'a jamais dans les organes les déchirements qu'on ne peut éviter par les autres moyens.

Voici d'ailleurs comment on peut s'y prendre : dans le fond d'un petit tube de verre ayant cinq ou six centimètres de long, et sept ou huit millimètres de diamètre, on installe l'objet à inclure, soit, par exemple, un petit amas de zygosporés fixées à l'alcool ; il est inutile de s'occuper de l'orientation qu'elles peuvent avoir.

Une petite masse à peu près sphérique ayant 5 ou 6 millimètres de diamètre, composée de filaments zygosporés serrés les uns contre les autres, peut contenir environ une centaine de zygosporés orientées dans toutes

les directions possibles : de cette façon, on peut être sûr qu'on aura des coupes longitudinales, transversales, obliques, etc., en un mot passant dans tous les sens. Puis on verse du collodion dans le tube, jusqu'à ce qu'il soit rempli aux deux tiers ou aux trois quarts : on bouche ensuite avec un petit bouchon de liège taillé de telle façon que l'oblitération ne soit pas complète ; un très petit canal doit faire communiquer l'intérieur du tube avec l'extérieur.

L'éther du collodion s'évapore lentement par ce pertuis, et, au bout de deux ou trois jours, on obtient un résidu qui se présente sous la forme d'un cylindre cartilagineux qu'on expose à l'air libre pendant quelques heures pour qu'il acquière sa consistance définitive, et qu'on coupe facilement ensuite entre deux lames de sureau avec le microtome de Ranvier. Ces coupes, qui sont très simples à faire, peuvent être débitées extrêmement minces, ce qui est un avantage pour les zygosporées jeunes, où le protoplasma dense et très homogène peut ainsi être scrupuleusement étudié. Lorsque les zygosporées sont plus âgées ou mûres, il est préférable d'augmenter l'épaisseur des coupes, car si l'on ne prend pas cette précaution, le protoplasma en mailles larges et lâches se déchire ou fléchit sous le rasoir, et l'on n'a plus que des coupes d'enveloppes. Au fur et à mesure que les sections sont faites, on les installe dans le liquide qu'on a choisi comme colorant, et on les y laisse pendant le temps nécessaire. Quand on veut monter les préparations, le procédé devient un peu plus délicat : on recommande généralement de se débarrasser du collodion, et, pour y arriver, je trempais au début mes coupes colorées dans l'alcool absolu, puis dans l'essence de girofle. Je plongeais mes coupes dans un verre de montre contenant cette dernière substance ; le collodion se dissolvait, toutes les petites tranches de zygosporées tombaient au fond du verre comme résidu. J'étais ensuite forcé de les reprendre avec un fin scalpel ou de petites spatules pour les

monter au baume ; j'en perdais ainsi les trois quarts, et celles qui étaient sauvées se trouvaient souvent détériorées par cette manipulation. Une autre expérience consistant à faire dissoudre le collodion par l'alcool absolu ou l'essence de girofle, quand les préparations sont disposées sur la lamelle où l'on veut les monter, ne m'a pas donné de plus heureux résultats.

J'ai fini par adopter la méthode suivante, beaucoup plus simple, et plus pratique : je transporte mes coupes colorées dans des alcools de degrés variés et successivement plus élevés pour les déshydrater ; je les lave rapidement dans l'alcool absolu sans lui donner le temps de dissoudre le collodion, qui se trouve ainsi simplement ramolli, et je monte le tout, collodion et zygospores, dans le baume du Canada. Le collodion est loin d'être un obstacle ; il permet même aux sections d'être examinées sur la coupe exactement dans le sens où elles ont été faites. Grâce à ce procédé, on range aisément cinq ou six coupes et même davantage sur une lamelle, et comme chacune intéresse vingt ou vingt-cinq zygospores, on peut avoir de cent à cent cinquante sections de ces organes dans une seule préparation. On peut même, avec un peu d'exercice, disposer et examiner les coupes en série, avec presque autant de précision que si on avait employé l'inclusion à la paraffine.

J'ai pensé qu'il n'était peut-être pas sans intérêt d'exposer ce manuel opératoire qui s'écarte parfois des méthodes classiques.

É T U D E

DES

GENRES ET DES ESPÈCES

J'adopterai dans ce travail la classification proposée par M. Van Tieghem qui divise les *Mucorinées* en : *Pilobolées*, *Mucorées*, *Mortiérèllées* et *Syncéphalidées*. J'essaierai, chaque fois que je décrirai un type, d'exposer la structure de ses organes à divers moments de son développement.

MUCORÉES

La tribu des *Mucorées* doit prendre, dans ce mémoire, la première place, pour plusieurs raisons : d'abord, elle est de beaucoup la plus importante des quatre par le nombre de genres qu'elle renferme : j'ajouterai que les premiers échantillons que je me suis procurés appartenaient à ce groupe, et qu'ils ont servi en quelque sorte de base pour toutes mes autres recherches. Les principales *Mucorées* que j'ai étudiées sont les suivantes :

Sporodinia.	<i>Grandis.</i>
	<i>Mucedo.</i>
	<i>Racemosus.</i>
Mucor.	<i>Circinelloides.</i>
	<i>Rubescens.</i>
	<i>Rigidus.</i>
Rhizopus.	<i>Nigricans.</i>
Chaetocladium.	<i>Jonesii.</i>
	<i>Brefeldii.</i>
Thamnidium.	<i>Elegans.</i>

SPORODINIA

Sporodinia grandis Link.

Sporodinia grandis Link est une *Mucorinée* fort intéressante sur laquelle tout me paraît avoir été dit au point de vue morphologique. Décrite par Link (1) en 1824, cette plante a été l'objet de nombreux travaux parmi lesquels il faut citer ceux d'Ehrenberg (2) qui fit connaître ses zygospores en 1829, en les décrivant comme des zygosporanges, de Tulasne (3) qui rectifia cette erreur en 1855, en montrant que ces prétendus zygosporanges étaient de véritables zygospores, de Schact (4) et de De Bary (5) qui complétèrent successivement en 1864 la description de ce champignon en précisant un certain nombre de détails. En 1875, M. Van Tieghem (6), reprenant cette étude, confirmait les assertions de De Bary en y ajoutant quelques observations personnelles. Plus récemment enfin, en 1887, M. Vuillemin (7), examinant cette espèce, a exposé quelques considérations histologiques sur lesquelles nous aurons à revenir plus loin.

Les différents mémoires que je viens de citer font que cette plante est aujourd'hui trop connue pour qu'il soit nécessaire de revenir ici sur sa description, qui d'ailleurs ne rentre pas dans le plan de ce travail : je me contenterai de rappeler que c'est une *Mucorée* à filaments sporangifères dichotomes (fig. 1), parasite sur les grands

(1) Link, *species plant.* VI, p. 94.

(2) Ehrenberg-Verhandlung. Der Gesellsch. natur. Freund. Zu Berlin I, p. 98, 1829.

(3) Tulasne. Comptes rendus Ac. des Sc., XLI p. 617, 1855.

(4) Société de médecine et d'histoire natur. du Bas-Rhin. Compte rendu de la séance, à Bonn, le 7 avril 1864 (*Gazette de Cologne* du 1^{er} juin 1864).

(5) De Bary Beiträge, I, p. 74, 1864.

(6) Van Tieghem. *Nouvelles recherches sur les Mucorinées* (Annales des sciences naturelles, 1875).

(7) Paul Vuillemin. *Etudes biologiques sur les champignons*. Nancy, 1887.

champignons, et qui offre ce sérieux avantage qu'elle possède presque toujours à la fois des sporanges, des zygosporos et des azygosporos aériennes ; on ne lui connaît pas de chlamydosporos. Il est donc facile, dans les cultures, de suivre pas à pas la formation de ces différents organes, et de se les procurer à toutes les phases de leur développement. J'ai été assez heureux pour que cette espèce, rencontrée au mois d'août 1893 par M. Dangeard qui eut l'obligeance de me l'offrir, fût la première que j'eusse à examiner ; et comme j'en avais un nombre considérable d'échantillons de tous les âges, que je l'ai rencontrée deux fois encore depuis cette époque, j'ai pu en faire une étude assez approfondie et assez complète, pour qu'elle pût servir de base à toutes mes autres recherches sur les *Mucorinées*.

Je commencerai par exposer le développement et la constitution de l'appareil sporangifère.

Le thalle, chez *Sporodinia grandis*, se présente sous la forme de tubes ramifiés qui, jeunes, ont une membrane mince cylindrique recouvrant un protoplasma dense, finement granuleux, et rempli d'un nombre considérable de noyaux. Ceux-ci sont pourvus d'un nucléole qui se colore avec beaucoup d'intensité sous l'action des réactifs (picrocarmin, hématoxyline, etc.). Ce nucléole est entouré par un cytoplasme incolore, limité par une membrane très fine. La forme de ces noyaux vésiculaires est généralement sphérique : nous verrons tout à l'heure qu'elle est sujette à des variations dont j'exposerai plus loin les causes.

C'est sur le thalle ainsi constitué que se développent les filaments sporangifères. On voit se former çà et là sur les tubes mycéliens de petites émergences qui ne sont autre chose que le début du système sporangifère dressé perpendiculairement au substratum. Ces jeunes filaments sont tout d'abord simples, et ont la forme de petites colonnes cylindriques à extrémité convexe. Le protoplasma du thalle y afflue avec les noyaux, qui se groupent en

masse serrée surtout vers l'extrémité. Mais bientôt les tubes se divisent pour former la première dichotomie : cette division présente quelques particularités qui n'ont point été signalées par les auteurs, et qu'il est nécessaire d'indiquer ici : Lorsqu'un filament est sur le point de se scinder (fig. 2), on voit apparaître, en deux points diamétralement opposés de son extrémité, deux petites hernies, deux cornes, dans lesquelles s'engage le protoplasma et quelques noyaux. C'est le début de la dichotomie et des premières branches du filament sporangifère. Nous devons constater que le filament ne se divise pas brusquement en deux. Il existe en effet une sorte de calotte convexe qui sépare la base des deux bourgeons latéraux. Le protoplasma s'accumule vers l'extrémité ; les noyaux y forment un amas considérable, mais sont séparés de la partie convexe de la membrane par une certaine épaisseur de protoplasma hyalin complètement dépourvu des noyaux. Le même mode de division se reproduit à la dichotomie suivante (fig. 3), mais en s'atténuant : aux dernières dichotomies, la scission des filaments est plus nette et plus brusque. Les dernières branches sont celles qui doivent se renfler en sporanges ; M. Van Tieghem (1) les décrit comme courtes et renflées en fuseau vers le milieu, ce qui existe souvent, bien que la forme qu'il a dessinée semble, dans certain cas, un peu exagérée : parfois les branches terminales restent droites, et prennent une forme plus ou moins effilée. Bientôt elles se gonflent vers leur sommet (fig. 4), et forment, à l'extrémité de chaque rameau, autant de petites massues pleines de protoplasma et de noyaux. Tout le long de ces filaments on trouve, entraînés dans le courant protoplasmique, des cristalloïdes de mucorine, de formes et de grandeurs différentes, ainsi que l'a fait remarquer M. Van Tieghem.

Un peu plus tard, les renflements terminaux s'accen-

(1) Van Tieghem. *Nouvelles recherches*, p. 87.

tuant de plus en plus, nous arrivons au stade représenté par la figure 5, où les sporanges ont acquis leur forme définitive, à peu près sphérique. A cet état, le sporange, dont la paroi est très mince, est complètement rempli par un protoplasma homogène et très dense ; les noyaux qui se sont, pendant ce développement, multipliés rapidement par voie directe, sont en nombre considérable. La figure ne peut représenter les objets qu'en coupe optique et ne donne pas l'idée juste de ce que l'on voit sous le microscope, qui permet de les observer dans toute leur épaisseur en faisant varier le point. On examine ainsi le jeune sporange à toutes sortes de plans différents, et l'on peut constater qu'à ce stade il y a homogénéité parfaite dans la condensation du protoplasma et le groupement des noyaux.

Une modification profonde se produit ensuite dans l'anatomie du sporange. On voit naître, en effet, dans le protoplasma, deux zones parfaitement distinctes, bien qu'elles ne soient point tout d'abord séparées par une membrane (fig. 6). M. Van Tieghem qui a observé ce phénomène, sans analyser les différences histologiques qu'il entraîne, a nommé la zone externe protoplasma *sporigène*, parce que c'est elle qui, constituée par un protoplasma de choix, est appelée à former les spores; elle est tout à fait pariétale, et entoure complètement la zone interne qui, très différente, va se recouvrir d'une membrane délimitant la columelle, à l'intérieur de laquelle ce protoplasma demeure pendant un certain temps encore, probablement à l'état de résidu. Ce protoplasma columellaire est beaucoup moins dense et plus clair que le sporigène, et contient un plus petit nombre de noyaux ; ceux-ci d'ailleurs y conservent leur forme et la constitution que j'ai indiquées plus haut, et ne se modifient que plus tard.

La zone sporigène se présente comme une calotte sphérique d'un aspect sombre, où le protoplasma et les noyaux, suivant la forme de la membrane du sporange,

sont disposés en trainées concentriques très rapprochées les unes des autres, mais facilement visibles au microscope, lorsque les colorations sont bien faites. Les noyaux, entraînés dans ce mouvement, sont logés dans les stries protoplasmiques, et s'étirent en prenant une forme ovoïde. Disons maintenant quelques mots sur cette forme des noyaux que nous serons appelés à constater souvent dans le courant de cette étude. Cet état est seulement transitoire, et, dans aucun cas, ne doit être considéré comme définitif. M. Alfred de Wèvre (1), dans une note publiée en 1891, sur le noyau des *Mucorinées*, le décrit comme généralement ovale ou fusiforme. D'abord, si je m'en rapporte aux dessins qui accompagnent cette note, comme au texte lui-même, je doute fort que l'auteur ait bien vu les noyaux des espèces qu'il a étudiées, et dont plusieurs seront décrites dans ce mémoire; puis, en admettant que les corps dont il parle soient vraiment des noyaux, il les a vus à cet état particulier que je viens d'indiquer, probablement parce qu'il n'a observé que des échantillons un peu trop âgés où le protoplasma pariétal entraînait les noyaux dans ses mailles fines et allongées. D'une façon générale, le noyau des *Mucorinées* a la forme *sphérique*; mais, comme il est doué d'une certaine élasticité, il peut, sous certaines influences, telles qu'une pression quelconque, s'allonger et prendre une forme ovoïde. Je ne parle pas ici, bien entendu, des phénomènes qui accompagnent la division du noyau; celle-ci, dans les filaments et dans le thalle, est directe, et se passe rapidement: les noyaux, dans ce cas, s'étirent pour se diviser; mais on les trouve rarement dans cet état, à cause de la rapidité même avec laquelle les choses se passent.

D'ailleurs, la forme ovoïde que prennent les noyaux dans le sporange de *Sporodinia grandis* ne persiste pas longtemps, car, dès que le protoplasma sporigène com-

(1) Alfred de Wèvre. *Le noyau des Mucorinées*, Bulletin de la Société royale de Botanique de Belgique, t. XXX (1891), première partie.

mence à se diviser en spores, les noyaux redeviennent sphériques, comme ils l'étaient auparavant.

La formation des spores a été admirablement décrite par M. Van Tieghem, au point de vue morphologique (1). « Le protoplasma sporigène, dit cet auteur, se sépare d'abord en deux substances très différentes. La première, toujours granuleuse, se condense en petites portions polyédriques qui deviendront bientôt autant de spores ; on peut donc l'appeler protoplasma sporaire. L'autre, homogène et brillante le plus souvent, sépare ces petites portions les unes des autres, et semble former les parois d'autant de petites cellules qu'il y a de spores ; c'est le protoplasma intersporaire. Bientôt les petites portions de protoplasma sporaire arrondissent leurs angles, prennent leur forme définitive, sécrètent une membrane de cellulose, et faisant plus tard disparaître leurs granules, acquièrent en définitive cette homogénéité et cette réfringence spéciale qui caractérisent les spores de la plupart des Mucorinées. Le protoplasma intersporaire se répartit en même temps de manière à occuper toujours tous les espaces laissés entre les spores, et à former entre la membrane du sporange et les spores périphériques une couche plus ou moins mince.....

« Les spores de Mucorinées à sporange sphérique sont produites dans le sporange par voie de formation libre..... Cette formation libre n'est pas en général précédée ou accompagnée du développement de noyaux. »

En somme, ce passage montre d'une façon très exacte le développement des spores dans ses traits principaux ; mais il faut y signaler quelques petites inexactitudes en ce qui concerne la constitution des spores et l'absence des noyaux pendant leur formation. En effet, j'ai pu constater que chaque portion polyédrique de protoplasma sporaire est remplie de noyaux qui, chez *Sporodinia grandis*, sont au nombre de 30 à 50 en moyenne (fig. 7 et 8). La

(1) Van Tieghem, *Nouvelles recherches sur les Mucorinées*.

présence des noyaux dans les polyèdres sporigènes n'a rien qui doive nous surprendre, puisque nous les avons déjà vus dans le protoplasma sporigène avant sa division. Les sporanges sont loin de contenir le même nombre de spores ; la zone sporigène, chez *Sporodinia grandis*, forme en général une seule couche de spores dont le nombre peut varier de 15 à 60. Elles sont grandes ; on les décrit ordinairement comme sphériques (1) ; mais je les ai rencontrées à peu près aussi souvent ovoïdes, et il n'est pas rare de voir les deux formes et des dimensions différentes dans le même sporange. Les dimensions elles-mêmes sont très variables de 0 mm. 0 20 à 0 mm. 035, dit M. Van Tieghem ; l'écart est encore plus considérable de 0 mm. 015 à 0 mm. 040 ; il y a d'ailleurs des variétés de spores à petites spores, et d'autres à grandes (fig. 7 et 8). Les différences dans les dimensions des spores entraînent des variations dans le nombre des noyaux qu'elles contiennent ; il peut tomber à 25 et même au-dessous, et monter jusqu'à une centaine. Je dois d'ailleurs dire que *Sporodinia grandis* est la seule *Mucorinée*, parmi celles que j'ai étudiées, où les spores renferment un aussi grand nombre de noyaux.

Celles-ci sont d'abord revêtues d'une mince membrane, et, pendant quelque temps, le protoplasma les remplit complètement : il y est très homogène (fig. 9). Mais, peu à peu, il devient trabéculaire et se transforme en partie en huile qui, à maturité, occupe le centre de la spore sous la forme d'un gros globule, tandis que le protoplasma forme une couche pariétale (fig. 10), dans laquelle sont contenus les noyaux. Pendant ce temps la membrane de la spore s'est épaissie, et se montre avec un double contour. Dans l'espèce qui nous occupe, le développement de la spore s'arrête là, ce qui explique qu'elle germe facilement. Je dois dire ici que l'opinion exprimée par M. Van Tieghem, sur la structure des spores, dans le pas-

(1) Van Tieghem, *loc. cit.*

sage que je viens de citer, n'est pas tout à fait d'accord avec le résultat de mes recherches. Les spores des *Mucorinées* ne font pas disparaître leurs granules, comme le dit M. Van Tieghem : ce savant appelle probablement granules le protoplasma avec les noyaux ; il a vu le tout, sans coloration, sous la forme d'une masse sombre plus ou moins granuleuse. Chez *Sporodinia grandis* où les spores ne dépassent généralement pas le degré de développement que je viens d'indiquer, cette apparence persiste jusqu'à la germination. Mais, chez la plupart des *Mucorinées*, l'épaississement de la membrane donne aux spores l'apparence homogène et la réfringence dont parle M. Van Tieghem ; nous verrons plus tard que, même dans ce cas, on peut, par des moyens spéciaux, mettre en évidence le protoplasma avec ses noyaux.

Donnons maintenant quelques détails sur le développement et la constitution des membranes dans l'appareil sporangifère. Lorsque la plante est au début de sa croissance, la membrane cylindrique des tubes est simple et extrêmement mince. Mais peu à peu elle s'épaissit, et présente d'abord deux, puis, finalement, trois couches distinctes (fig. 11 et 12) : une externe, qui est très fine ; une moyenne, beaucoup plus épaisse, et une interne très mince, plus mince même que la première. C'est la couche moyenne qui se colore en violet, puis en brun au fur et à mesure que la plante grandit. M. Van Tieghem (1) a signalé le long des tubes des bandes claires dont M. Vuillemin (2) a discuté l'interprétation. Le savant professeur du Muséum les attribue à des défauts de coloration de la membrane externe. M. Vuillemin prétend avec raison que cet aspect est dû à de petits plissements de cette membrane sur la seconde ; mais il pense à tort que celle-ci se moule sur le protoplasma sur lequel elle serait directement appliquée, et dont elle suivrait le mouvement. L'existence de la membrane interne a évidemment échappé à ces

(1) Van Tieghem, *loc. cit.*

(2) Vuillemin, *Etudes biologiques sur les champignons.*

deux auteurs ; la vérité est que la membrane médiane reste rigide et se brunit, tandis que les deux autres sont plus ou moins flasques et demeurent incolores. Les réactifs ordinaires, l'acide sulfurique, la potasse, les colorants mettent très facilement cette constitution en évidence.

Les tubes du thalle et de l'appareil sporangifère, à ce stade ultime de leur développement, sont souvent complètement vides de protoplasma et de noyaux, et alors on y rencontre, de distance en distance, des cloisons comme celles que M. Van Tieghem a décrites à la base de chacun des petits rameaux qui supportent les sporanges. Mais souvent elles n'existent pas, et le protoplasma, au lieu d'évacuer brusquement les filaments, s'y transforme sur place, en partie, en huile, tandis que le reste devient pariétal (fig. 11 et 12) : sur une coupe transversale, on le voit directement appliqué contre la paroi des tubes ; il contient encore un certain nombre de noyaux appelés eux-mêmes à subir une transformation intéressante. En effet, tout le long des filaments, et jusque dans la columelle dont la membrane ondulée reste toujours fine et simple, le protoplasma, se résorbant peu à peu, laisse en place, et comme fichés dans la paroi, les noyaux dont la membrane disparaît et qui finissent par être réduits à leur seul nucléole.

Nous constaterons d'ailleurs ce fait dans toutes les autres espèces de *Mucorinées*. Dans ce cas, les nucléoles qui persistent constituent de véritables ornements de la columelle et des filaments, et ne disparaissent qu'avec la destruction définitive de ces organes.

On sait que la membrane des sporanges de *Sporodinia grandis* ne présente pas, comme celle de beaucoup d'autres espèces de cette famille, de cristaux d'oxalate de chaux : elle se résorbe complètement à la maturité, laissant les spores à nu, agglutinées par le protoplasma intersporaire. M. Vuillemin (1) a décrit et dessiné des épaississements

(1) Vuillemin, *loc. cit.*

qu'on trouve çà et là sur la membrane du sporange : il les considère comme les points de départ de la gélification et de la résorption de la membrane. Je dois dire que je ne les ai vus que dans un petit nombre de cas, et que je ne crois pas pouvoir partager cette opinion. Il ne me reste plus, pour compléter l'étude de l'appareil sporangial, qu'à montrer la germination des spores, description qui trouvera sa place plus loin.

Développement et structure de la zygospore. — *Sporodinia grandis* forme, dans les conditions les plus ordinaires et les plus normales d'existence, des zygospores qui se développent souvent en même temps que les sporanges : ayant rencontré cette plante en trois occasions différentes, j'ai pu constater que ces zygospores aériennes se présentent régulièrement dans les cultures au bout de quelques jours, et qu'il est facile de les distinguer à leur apparence d'un blanc laiteux qui précède la cutinisation de leur membrane externe. Cette formation des zygospores est admirablement connue dans tous ses détails, et il serait superflu de la rappeler ici. Mais je dois faire remarquer que *Sporodinia grandis* est, à beaucoup près, la plus avantageuse de toutes les *Mucorinées* pour l'étude de cet organe : l'œuf de cette plante, en effet, atteint une dimension de plusieurs dixièmes de millimètre, et il offre beaucoup moins de difficultés pour les recherches que celui de toutes les autres *Mucorinées* ; de plus, son développement aérien permet à l'observateur de se le procurer à tous les stades de son évolution.

Les filaments zygosporés n'offrent point, dans leur aspect ou dans leur constitution, de différence appréciable avec les filaments sporangifères. Les renflements en ampoules qui constituent ce qu'on a appelé les gamètes, et qui vont se conjuguer, peuvent appartenir à des filaments différents, ou au même tube, et quelquefois même naissent chacun à la base d'une même dichotomie (fig. 13). Les filaments zygosporés contiennent, comme tous les appareils que nous avons examinés jusqu'ici, du proto-

plasma plus ou moins dense, suivant l'état de leur développement, avec un nombre plus ou moins considérable de noyaux d'une constitution identique à celle des noyaux des tubes sporangifères. Il est donc inutile que je me répète ici, et je vais entrer immédiatement dans la description de l'appareil sexuel proprement dit (1).

Que l'œuf provienne de gamètes appartenant à des filaments différents, ou à la même dichotomie, il n'y a pas la plus petite différence histologique; cela se comprend aisément d'ailleurs; j'ai donc, pour la simplicité des figures, représenté des zygosporos formées à la base des dichotomies. J'ajouterai que les renflements piriformes qui doivent se réunir ont une structure absolument identique, et que l'isogamie est encore plus exacte anatomiquement que morphologiquement. Le développement de ces gamètes est très simple à exposer. Les deux ampoules qui croissent l'une vers l'autre ont le plus souvent dès le début un aspect piriforme (fig. 14): le protoplasma peut n'y arriver que lentement, en larges mailles contenant un nombre variable de noyaux. Dans ce cas, l'afflux du protoplasma se fait progressivement, et les noyaux conservent leur forme sphérique et la structure que j'ai indiquée précédemment. Peu à peu, les renflements se remplissent complètement, et le protoplasma s'y montre très dense (fig. 15), contenant de nombreux noyaux. Un grand nombre de ceux-ci viennent du thalle; beaucoup aussi naissent par division directe, phénomène que l'on constate souvent à l'intérieur des filaments. Il n'est pas rare de trouver au milieu d'une foule de gamètes dont le développement est normal des ampoules stériles (fig. 16), dans lesquelles on ne rencontre pas trace de protoplasma, et qui ne contiennent parfois que quelques cristalloïdes de mucorine. Ce sont de véritables paraphyses. Les filaments qui les supportent renferment cependant une cer-

(1) Je dis appareil sexuel pour employer un terme consacré. Nous verrons par la suite que cette expression ne doit être employée que sous toutes réserves. J'en dirai autant des mots gamète, œuf, etc.

taine quantité de protoplasma avec des noyaux dont aucun ne pénètre dans l'ampoule stérile. Ce sont des organes frappés d'arrêt de développement pour des raisons difficiles à préciser : on ne peut attribuer à leur isolement la cause de cet arrêt, puisque, comme on le sait, beaucoup de renflements, au lieu de se réunir, cutinisent séparément leurs extrémités, et forment des azygospores. Ces ampoules stériles ne peuvent former ni des zygospores, ni des azygospores : elles ne jouent aucun rôle dans le développement de la plante, et il est impossible de déterminer leur raison d'être. Dans certains cas, leur nombre est considérable ; je ne puis croire qu'elles résultent d'une faiblesse de l'individu, ou de mauvaises conditions d'existence, car je les ai rencontrées dans des cultures où le champignon était très vigoureux, et dans lesquelles pullulaient zygospores, azygospores et sporanges.

Revenons maintenant à nos gamètes remplis de protoplasma et de noyaux ; leur structure intime, je le répète, est absolument la même : il est impossible de trouver un détail quelconque qui permette de différencier les sexes. Au moment où les renflements piriformes arrivent au contact, formant ainsi le premier stade du développement de la zygospore, leur constitution est la suivante : deux cas peuvent se présenter. Dans le premier (fig. 17), le protoplasma étant arrivé lentement dans les ampoules, s'accumule vers l'extrémité de chacune d'elles, englobant un certain nombre de noyaux sphériques. Toutefois, le protoplasma n'arrive pas à toucher les membranes au contact, et il en est séparé par une ligne de démarcation claire et hyaline. Ceci nous rappelle exactement ce qui se passe dans le développement des filaments sporangifères. Cette zone claire est certainement produite par une modification du protoplasma qui devient hyalin, sans granulations, et ne contient pas un seul noyau. Au fur et à mesure qu'on se rapproche davantage du filament qui a donné naissance aux gamètes, on constate que le protoplasma diminue graduellement de den-

sité, et qu'il forme des mailles plus ou moins lâches dans lesquelles sont renfermés les noyaux. Dans le second cas (fig. 18), le protoplasma arrivant d'emblée en plus grande abondance, forme vers l'extrémité renflée des ampoules un amas beaucoup plus considérable, où les noyaux sont au nombre de plusieurs centaines pour chaque gamète. De plus, comme ils sont entraînés dans un courant protoplasmique assez rapide, ils prennent tous, en vertu de l'élasticité que j'ai signalée plus haut, la forme ovoïde ; tous les axes des noyaux sont parallèles entre eux et à la direction du courant, c'est-à-dire à une ligne qui passerait par le milieu de la base d'un gamète, et par le milieu de son sommet. Dans ce cas encore, au niveau du plan de contact des ampoules, on trouve toujours la zone de protoplasma clair et hyalin sans noyaux, qui ne disparaîtra qu'au moment de la résorption des membranes. Comme dans le cas précédent, plus on se rapproche de la base des renflements, moins le protoplasma est serré ; mais les noyaux qu'il contient dans ses mailles sont toujours ovoïdes.

On peut voir, d'après les quelques lignes qui précèdent, que la structure des gamètes est extrêmement simple ; nous les avons suivis jusqu'à leur contact : à partir de ce moment, les cloisons délimitant la zygospore vont se former, la membrane mitoyenne va se résorber, l'œuf est constitué, en partie du moins, et nous allons entrer dans l'inconnu.

Je dis l'inconnu, car, si nous voulons consulter les auteurs, nous constatons que la littérature, déjà fort pauvre sur la structure des autres organes des *Mucorinées*, ne peut pas nous fournir le moindre renseignement sur l'anatomie de la zygospore. Si personne n'avait songé à décrire en détail la constitution et la distribution du protoplasma et des noyaux, le rôle qu'ils jouent dans la formation des spores, etc., quelques auteurs, du moins, avaient signalé leur présence bien avant que j'aie eu l'idée de commencer ces recherches. Tout ce que les observateurs

nous apprennent sur la structure de la zygospore, c'est que, lorsqu'elle est jeune, elle renferme du protoplasma, et lorsqu'elle est âgée, de l'huile avec un peu de protoplasma pariétal. M. Van Tieghem (1) déclare que la zygospore ne renferme jamais de mucorine. Nous verrons ce qu'il nous faudra penser de cette opinion. M. Vuillemin (2) étudiant une espèce nouvelle, *Mucor heterogamus*, s'exprime ainsi à propos de la formation de la zygospore : « Il nous a semblé que les noyaux restaient multiples, comme dans les supports ; mais la densité du protoplasma ne nous a pas permis d'en constater la présence aussi sûrement que dans le filament grêle, et nous donnons cette observation sous toute réserve. » Ainsi, dans le cas le plus facile de tous, c'est-à-dire au stade qui précède la cutinisation de la membrane externe, M. Vuillemin, en progrès cependant sur les auteurs qui ont étudié cette question, soupçonne seulement la présence des noyaux, sans pouvoir l'affirmer.

J'ai donc fait preuve d'une certaine témérité en me lançant dans cette étude difficile ; et si je suis arrivé à des résultats heureux, je le dois seulement à ce fait que j'ai pu suivre pas à pas le développement de la zygospore chez quelques espèces, et surtout chez *Sporodinia grandis*. Les difficultés sont d'autant plus grandes d'ailleurs, que les zygospores qu'on examine sont plus âgées. Trois réactifs colorants seulement m'ont paru d'un emploi avantageux pour ces recherches spéciales : le picrocarmin de Weigert, l'hématoxyline de Grenacher au phénol et l'hématoxyline de Böhmer à l'acide acétique. Les colorations rapides comme celles obtenues par la fuchsine sont déplorables, et l'hématoxyline en cristaux ne vaut rien du tout. D'ailleurs, dans l'exposé qui va suivre, j'indiquerai les procédés employés.

La zygospore existe à partir du moment où les cloisons

(1) Van Tieghem, *Traité de Botanique*, 2^e édition, p. 522.

(2) Vuillemin, *loc. cit.*

qui doivent la séparer du reste de la plante ont fait leur apparition dans chaque gamète. La cloison mitoyenne se résorbe complètement, et il y a contact entre les protoplasmes des deux branches copulatrices ; il y a contact, car la zone hyaline que j'ai signalée plus haut disparaît en même temps que la cloison médiane, et il n'est plus possible de trouver à l'intérieur de la jeune zygospore la moindre ligne de démarcation entre le contenu des deux ampoules : ceci permet jusqu'à un certain point de dire qu'il y a fusion entre les deux protoplasmes. Le protoplasma définitif ainsi constitué est extrêmement dense, et paraît contenir tous les noyaux qui l'ont accompagné : mais ceux-ci, grâce à l'homogénéité du protoplasma et à leur élasticité, reprennent leur forme normale, c'est-à-dire sphérique. En somme, à ce stade, ces constatations sont assez faciles, car, malgré la densité du protoplasma, on obtient d'admirables colorations des noyaux en laissant les jeunes zygospores séjourner seulement vingt-quatre heures dans un des trois colorants que je viens d'indiquer : comme à ce moment les membranes sont encore très minces et lisses, elles se laissent pénétrer par les réactifs aussi rapidement que celles des filaments, et l'observation directe est assez facile. Une simple compression exercée entre la lamelle et le porte-objet suffit pour aplatir la zygospore et pour l'étaler de façon qu'aucun détail de sa structure ne puisse échapper à l'observateur. C'est à cet état de début que M. Vuillemin n'a pu constater sûrement la présence des noyaux ; les nombreuses préparations que j'ai faites ne peuvent laisser aucun doute à ce sujet : il est incontestable que la zygospore contient à ce moment des milliers de noyaux. D'ailleurs, on les retrouve encore un peu plus tard (fig. 19), au moment où la membrane commence à s'épaissir et à se couvrir d'ornements : la cutinisation n'a pas encore lieu. L'enveloppe de la zygospore, malgré cet épaississement, laisse encore pénétrer les réactifs, mais il est bon de les laisser agir un peu plus longtemps que dans le cas précédent, pendant deux

jours, par exemple. Toutefois, comme la transparence a presque complètement disparu, il faut employer le moyen suivant, qui permet d'examiner d'une façon complète et sûre l'intérieur de l'œuf : après déshydratation, on monte les préparations dans le baume du Canada ; puis, par une pression suffisante, on fait éclater l'enveloppe, et le contenu se répand au dehors. On peut encore disséquer les zygospores à la loupe avec de très fines aiguilles ; on déchire la membrane avec précaution, et l'on étale le protoplasma comme je l'ai représenté sur la figure 19. Je préfère de beaucoup ce dernier procédé qui permet de ne rien laisser passer inaperçu dans les préparations : celles-ci sont de la sorte très claires, car on peut ainsi étaler le protoplasma, malgré sa densité, en une couche assez mince, et les noyaux se montrent très beaux. On peut constater par ce moyen qu'il ne s'est encore produit aucun changement dans la constitution de la jeune zygospore. Je signalerai seulement un léger épaississement circulaire qui se forme au milieu de chacune des cloisons qui la séparent de ses suspenseurs ; nous reviendrons d'ailleurs un peu plus loin sur ces cloisons. Les suspenseurs et les filaments contiennent à ce stade un protoplasma à mailles assez larges, avec un certain nombre de noyaux qui y sont disséminés. On trouve aussi quelques cristalloïdes de mucorine dans les suspenseurs, au voisinage des cloisons ; la formation de cette substance et son rôle vont nous occuper dans un instant.

A partir de cette phase dans le développement de la zygospore, l'épaississement de la membrane s'accroît, et la cutinisation marche rapidement : cette cutinisation commence à partir d'une ligne circulaire, qui est la ligne de jonction des gamètes et s'étend de là vers les suspenseurs. Pendant presque toute l'existence de la zygospore, cette ligne se distingue aisément comme une sorte de sillon dont les bords seuls seraient garnis de tubercules : l'œuf ayant la forme d'un tonneau, elle représente un cercle qui passe par le milieu de ce tonneau. Il devient

impossible, lorsque la cutinisation est produite, de traiter la zygospore par les procédés ordinaires pour la colorer. C'est ici qu'intervient la méthode des coupes, que j'ai exposée plus haut.

Si l'on examine (fig. 20) une coupe longitudinale de zygospore dont la membrane vient de se cutiniser, on peut voir tout d'abord que le protoplasma n'a pas changé d'aspect : il a conservé sa densité, et contient encore une quantité considérable de noyaux sphériques dont la constitution est toujours la même. Dans quelque sens que la coupe soit faite, qu'elle soit oblique, longitudinale ou transversale, elle montre invariablement à ce moment du développement que le protoplasma est absolument homogène, et qu'il remplit, avec tous les noyaux, toute la cavité de la zygospore. Mais, fait important à constater, toutes les coupes révèlent la présence d'assez nombreux cristalloïdes de mucorine disséminés dans la masse protoplasmique.

Ainsi que je le faisais remarquer plus haut, M. Van Tieghem nie l'existence de la mucorine dans la zygospore : « Les corps protoplasmiques oogènes, dit cet auteur, qui remplissent d'abord les deux cellules conjuguées, ainsi que le corps protoplasmique de l'œuf ou zygospore qui provient un peu plus tard de leur pénétration réciproque, en sont totalement dépourvus. » Cette assertion est, comme on le voit, exagérée ; et le fait de trouver la mucorine dans la zygospore est d'une importance capitale pour l'opinion qu'on doit avoir sur le rôle de cette matière albuminoïde. M. Van Tieghem appuyant son raisonnement sur la prétendue absence de la mucorine dans le protoplasma sporigène et dans l'œuf, conclut que c'est un produit d'élimination ; toute la théorie de l'illustre botaniste repose sur cette erreur, et nous paraît difficilement admissible lorsque celle-ci est constatée.

(1) Van Tieghem, *Traité de Botanique*, p. 522, et *Nouvelles recherches sur les Mucorinées* (*loc. cit.*), p. 29.

M. Van Tieghem (1) fait remarquer que « c'est un tout autre rôle, on le sait, que sont appelées à jouer les matières albuminoïdes, qui constituent ce qu'on appelle aussi les cristalloïdes des Phanérogames. A part le seul *Lathræa Squammaria*, qui doit être mis de côté comme étant parasite, les cristalloïdes se forment en effet, chez les Phanérogames, dans les graines et les tubercules; ils y constituent une réserve de matières albuminoïdes spéciales destinées à être employées plus tard au moment de la germination. Ce sont des aliments mis en dépôt pour les besoins ultérieurs, et non des produits d'une élimination particulière, désormais inutiles à la plante. » Il est vrai que je n'ai jamais trouvé de cristalloïdes de mucorine dans le protoplasma sporigène; il est vrai aussi que je n'ai jamais rencontré cette substance dans la partie des cellules oogènes qui concourt à la formation de la zygospore. Mais à peine l'œuf est-il formé, que le protoplasma qu'il contient commence à sécréter de la mucorine. Cette substance fait son apparition dans la zygospore quelques heures après que celle-ci est formée, et nous verrons par la suite qu'elle s'y modifie et s'y comporte comme une véritable matière de réserve. Et si, comme je le pense, la mucorine est bien destinée plus tard à la nutrition de la plante, nous ne devons pas être surpris de constater son absence dans le protoplasma qui forme les spores. Celles-ci, en somme, se développent avec une rapidité parfois étonnante, et il n'est pas rare qu'elles acquièrent immédiatement leur faculté germinative. Dans un certain nombre d'espèces, les spores formées dans la journée sont en état de germer le soir même ou le lendemain: tel est le cas, par exemple, de *Sporodinia grandis*. La spore, dans ces conditions, n'a pas besoin de contenir des matériaux nutritifs pour la plante à laquelle elle donnera naissance. Elle représente une sorte d'enkystement de la partie la meilleure, la plus vivante et la plus active du pro-

(1) Van Tieghem, *Nouvelles recherches*, p. 31.

toplasma, qui se développe à la germination sans avoir subi de modification importante, si ce n'est la transformation d'une partie de lui-même en une masse oléagineuse qui constituera une réserve suffisante pour la jeune plante.

La zygospore se trouve dans des conditions tout à fait différentes. Il lui faut plusieurs semaines pour qu'elle arrive à maturité, et, dans la plupart des cas, alors même que sa constitution définitive est acquise, il est souvent nécessaire qu'elle reste longtemps encore à l'état de vie latente pour être en mesure de germer. Elle est donc dans le cas d'une foule de graines de Phanérogames, et il n'est pas surprenant que son protoplasma élabore un certain nombre de matériaux de réserve. Au premier rang apparaît la mucorine, la première en date, et qui semble ainsi être la substance la plus utile au développement de la jeune plante. D'ailleurs M. Van Tieghem constate la réapparition de la mucorine dans la zygospore au moment de la germination ; pourquoi, si c'est un produit inutile ou nuisible, entre-t-elle tout d'abord dans la constitution du nouveau champignon ? Et si le protoplasma des cellules oogènes s'épure pour former la zygospore, en abandonnant dans « l'antichambre », selon l'expression de M. Van Tieghem, la mucorine, produit éliminé, comment expliquer que ce même protoplasma en soit chargé au moment précis où cette substance devrait être reléguée ? Il nous est donc très difficile, d'après ce que nous venons de voir, d'admettre l'hypothèse de M. Van Tieghem, et nous sommes forcés de regarder la mucorine, au moins en ce qui concerne la zygospore, comme une matière albuminoïde de réserve d'une importance capitale pour le développement de l'individu.

Revenons maintenant sur quelques détails relatifs à la constitution de la zygospore au stade où nous sommes arrivés (fig. 21). Je veux parler de l'aspect que présentent les cloisons qui séparent la zygospore de ses suspenseurs : personne n'a signalé leur structure qui ne manque pas d'intérêt au point de vue physiologique.

En effet, elles n'isolent pas l'œuf d'une façon absolue de ses suspenseurs : elles présentent un certain nombre d'orifices qui permettent pendant quelque temps le passage des liquides nourriciers qui viennent des filaments. Quand on examine une cloison de profil, on constate la présence de l'épaississement circulaire central dont j'ai parlé plus haut. Brefeld (1) l'a d'ailleurs indiqué dans la zygospore de *Mucor mucedo* ; mais il n'a vu que la face tournée vers les suspenseurs, et comme il n'a observé ces organes qu'à un grossissement peu considérable, les détails lui ont échappé.

Au centre de l'épaississement biconvexe se trouve un fin pertuis auquel aboutit une sorte de petit canal (fig. 21), dont la membrane est d'une extraordinaire ténuité : ceci intéresse la face tournée vers les suspenseurs. Du côté de la zygospore, nous trouvons un canal identique, très court, et qui s'oblitére très rapidement : son extrémité est déjà fermée à la phase où nous sommes (fig. 20), et ce canal ne se montre plus que sous la forme d'une petite languette faisant hernie vers le centre de la zygospore. Quand on examine les choses de face, en admettant que l'œil soit placé à l'intérieur de l'œuf, on a l'aspect représenté sur la figure 22, qui montre, au milieu de l'épaississement circulaire, la membrane hyaline oblitérée qui aboutit au canal central ; en dehors se trouvent un ou plusieurs rangs de petits orifices losangiques qui ne tardent pas non plus à se fermer. On voit aussi de nombreux cristalloïdes de mucorine appliqués sur la membrane. Cela nous prouve que l'apparition des cloisons n'interrompt pas d'emblée toute communication entre l'intérieur de la zygospore et ses suspenseurs. Ceux-ci peuvent pendant quelque temps amener les substances nécessaires à la nutrition de la zygospore au début de son développement ; ces substances pénètrent à travers les parois et se mêlent

(1) Brefeld. *Untersuchungen über Schimmelpilze*, 1872, *Mucor mucedo*, pl. II.

au protoplasma de l'œuf jusqu'à ce que toute communication soit complètement interrompue.

J'ajouterai qu'au stade que nous venons d'étudier, le protoplasma de la zygospore n'est recouvert que par la seule enveloppe cutinisée, et qu'il remplit jusqu'aux crêtes dont elle est ornée. La figure 23 montre une portion de la zygospore à ce stade : la membrane cutinisée a été détachée, et à chacune de ses dents correspond un tubercule conique qui y pénètre. Le protoplasma se moule donc tout d'abord sur l'enveloppe.

A partir de ce moment surviennent des modifications considérables dans la constitution de la zygospore. Tout change : le protoplasma et les noyaux subissent des altérations profondes, et on va voir apparaître des enveloppes cellulosiques complexes. Tout d'abord le protoplasma perd de son homogénéité et de sa densité. Il prend la forme d'un filet à mailles très fines et serrées ; les noyaux sont beaucoup moins faciles à mettre en évidence à ce stade. Ils existent toutefois, cela est indiscutable, mais on se rend compte qu'un grand nombre d'entre eux sont en voie de désorganisation ; les nucléoles ont une tendance à s'atrophier, ils arrivent, dans certains cas, à n'avoir plus que l'apparence d'un point au milieu du noyau ; souvent même ils disparaissent complètement, et le noyau n'est plus qu'une vacuole pleine d'un liquide incolore, il n'existe plus. Le fait de voir le protoplasma perdre son homogénéité et se présenter en réseau à mailles plus ou moins serrées indique de sa part un travail qui accompagne sa transformation en huile.

En effet, le protoplasma va devenir de plus en plus lâche, et ses mailles seront bientôt tout à fait inégales. Celles de la périphérie resteront fines et serrées, tandis que vers le centre de la zygospore elles seront plus grandes, et le protoplasma sera moins abondant (fig. 24). La zygospore, à cette phase de son développement, représente, abstraction faite de ses enveloppes, une sorte d'éponge pleine d'huile, accumulée surtout vers le centre où les

vacuoles oléifères atteignent leurs plus grandes dimensions. La plupart des noyaux ont disparu, et ceux qui restent sont extraordinairement difficiles à mettre en évidence ; il faut, pour y arriver, employer le procédé de double coloration que j'ai exposé au chapitre consacré à la technique. Les coupes doivent être épaisses ; car si elles sont minces, le protoplasma qui n'offre plus qu'une très faible résistance est dilacéré par le rasoir : je les colore au picro-carmin d'abord, pendant 24 heures, et à l'hématoxyline de Grenacher pléniquée ensuite pendant une demi-heure environ. Ce procédé que j'ai employé tout d'abord en collaboration avec M. Dangeard, est le seul qui nous ait donné de bons résultats. Ainsi que nous le faisons remarquer (1), sous l'influence de la double coloration, on voit des noyaux de deux sortes : au milieu du réseau protoplasmique qui garde une coloration bleue, on trouve dans la zone périphérique des noyaux ayant l'aspect et les dimensions de ceux que nous avons signalés jusqu'ici, et d'autres qui ont deux ou trois fois le diamètre des noyaux ordinaires, avec un gros nucléole arrondi, dense, coloré en rouge : la membrane nucléaire très nette est séparée du nucléole par un intervalle absolument incolore. Je n'ai jamais pu, par aucun autre moyen de coloration, arriver à mettre les noyaux en évidence à ce stade : mais grâce à ce procédé, ils se détachent en rouge brique sur le fond bleu du protoplasma avec une netteté saisissante. Au bout de quelque temps, quand l'huile, devenue de plus en plus abondante, occupe la plus grande partie de la zygospore, on voit que les trabécules protoplasmiques qui s'étendent de la masse oléagineuse centrale à la paroi, ne renferment plus que des noyaux extrêmement petits, dont on finit d'ailleurs par ne plus trouver la moindre trace. La disparition des noyaux coïncide avec la formation dans la zygospore d'un certain

(1) P. A. Dangeard et Maurice Léger. *La Reproduction sexuelle des Mucorinées*. Comptes rendus. Acad. des Sciences, 5 mars 1894.

nombre de corps d'une interprétation difficile et dont le développement est très intéressant.

Je crois devoir cependant, avant de continuer cet exposé, dire quelques mots sur la formation et la structure des enveloppes.

Nous avons vu le protoplasma, au moment où il est homogène et plein de noyaux semblables, occuper toute la cavité de la zygospore et pénétrer jusque dans les tubercules coniques de l'enveloppe cutinisée. Dès qu'il devient trabéculaire, il se forme dans les plus fines mailles de la périphérie un dépôt de cellulose assez abondant ; le protoplasma pariétal sécrète ainsi de la cellulose à peu près jusqu'au moment où les noyaux disparaissent. La zygospore est ainsi recouverte par une épaisse enveloppe cartilagineuse, dans laquelle on peut facilement trouver plusieurs zones. M. Vuillemin (1), étudiant le développement des membranes dans la zygospore de *Mucor heterogamus*, décrit dans cette espèce un système assez complexe de couches stratifiées. Je n'ai jamais rencontré *Mucor heterogamus* ; mais dans la zygospore de *Sporodinia grandis* comme dans toutes celles que j'ai examinées, je pense qu'on peut indiquer, comme définitive, la structure suivante générale pour toutes les zygospores de *Mucorinées* :

L'enveloppe cellulosique recouverte par la membrane cutinisée est formée de deux couches très distinctes (fig. 25) : une couche externe, presque toujours la plus épaisse ornée de dents qui pénètrent dans les tubercules de la membrane noire, l'autre interne, généralement plus mince, mais pas toujours, et qui est absolument lisse. Quand on étudie avec beaucoup d'attention la membrane cellulosique, on peut voir que ces deux couches pourraient elles-mêmes être décomposées en un nombre de strates indéterminable. Cela se comprend aisément, si l'on songe au processus selon lequel s'accroît l'enveloppe

(1) Vuillemin, *Etudes biologiques sur les champignons*. (loc. cit).

cartilagineuse. Cet accroissement en effet est centripète, et il en résulte que la cellulose se dépose par couches parallèles ou concentriques, mais toutes soudées les unes aux autres. Le protoplasma est recouvert lui-même par une membrane spéciale, extrêmement délicate, indépendante de la précédente, quoiqu'elle soit appliquée contre elle : il n'est pas rare de la voir suivre, sous certaines influences, les contractions du protoplasma, et laisser de la sorte des vides entre elle et la membrane cartilagineuse. Il y a donc dans la zygospore à considérer trois enveloppes, absolument libres les unes par rapport aux autres, qui sont en allant de l'extérieur vers l'intérieur :

- 1° L'enveloppe cutinisée externe ;
- 2° L'enveloppe cellulosique composée de deux couches principales soudées entre elles ;
- 3° La fine membrane qui recouvre le protoplasma.

Il serait bon maintenant de s'entendre sur la valeur de ces membranes, et sur leurs relations avec l'œuf qu'elles recouvrent. De Bary et Woronine (1) considèrent la membrane noire externe comme l'exospore ; l'épaisse membrane blanche cartilagineuse qui porte les tubercules est pour eux l'endospore, dont la zone interne est nettement distincte. M. Van Tieghem (2) n'admet pas cette manière de voir : il regarde la membrane noire cutinisée comme parfaitement étrangère à l'œuf, et donne le nom d'exospore à la zone externe de la membrane cartilagineuse et blanche, dont la zone interne constitue pour lui l'endospore. Il m'est difficile, d'après ce que je viens de montrer, d'admettre l'une ou l'autre de ces deux opinions. Dans l'un et l'autre cas, les auteurs font abstraction complète de la troisième membrane qui recouvre directement le protoplasma. Elle existe cependant, cela est incontestable, et elle est aussi indépendante de l'enveloppe car-

(1) De Bary et Woronine, *Zur Kenntniss der Mucorinen* (Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze, 2^e série, 1866).

(2) Van Tieghem, *Nouvelles recherches sur les Mucorinées*, p. 83.

tilagineuse que celle-ci l'est de la membrane noire cutinisée externe. D'ailleurs, si De Bary et Woronine ont eu tort de considérer celle-ci comme l'exospore, je ne comprends pas bien pourquoi M. Van Tieghem la considère comme « parfaitement étrangère à l'œuf ». Si c'est à cause de son indépendance vis-à-vis de l'enveloppe cartilagineuse sous-jacente, on peut faire remarquer que celle-ci se comporte de même à l'égard de la fine membrane qui recouvre le protoplasma, et qu'on pourrait enlever complètement ce que M. Van Tieghem appelle l'exospore et l'endospore, sans pour cela que le protoplasma fût à nu. La meilleure preuve que l'enveloppe noire externe n'est point étrangère à l'œuf, c'est qu'elle demeure pendant un certain temps directement appliquée sur le protoplasma qu'elle protège seule, jusqu'à l'apparition des autres membranes. On pourrait nous objecter que le développement donne raison à M. Van Tieghem ; on est bien forcé d'avouer qu'à ce point de vue, cette enveloppe est par rapport à la zygosporé ce que la membrane du sporange est par rapport aux sporangiospores ; la membrane du sporange appartient au filament à l'intérieur duquel se développent les spores, et n'a rien de commun avec elles ; la membrane noire de la zygosporé provient de même des filaments qui se sont soudés, et recouvre simplement l'œuf jusqu'à ce qu'il acquière ses membranes propres. Il y a certainement une homologie frappante entre la membrane du sporange et la membrane cutinisée de la zygosporé. Nous devons répondre que si ces deux parties sont homologues morphologiquement, elles ont à jouer un rôle physiologique absolument différent. Dès que les spores sont mûres, la membrane du sporange se détruit d'une façon quelconque, elle se dissout, par exemple, comme cela se passe chez *Sporodinia grandis*, et les spores peuvent être disséminées ; elles n'ont pas besoin d'être protégées par elle, alors même qu'elles ne doivent germer que plus tard. La membrane cutinisée de la zygosporé, au contraire, est un organe pro-

tecteur de la plus haute importance, qui ne disparaît jamais, et qui continue à jouer son rôle jusque pendant la germination. Si cette membrane n'a pas la valeur morphologique de l'exospore, elle a du moins une importance telle pour l'existence de l'œuf, que nous sommes forcés de la considérer comme faisant partie de la zygospore elle-même.

En résumé, je proposerai la nomenclature suivante, que justifient les constatations histologiques et physiologiques ; nous appellerons :

Périspore la membrane cutinée externe ;

Exospore l'enveloppe cartilagineuse tout entière, composée de deux couches principales concentriques, absolument accolées, et soudées l'une à l'autre ;

Endospore la fine membrane qui recouvre immédiatement le protoplasma de la zygospore.

Faisons remarquer, pour terminer ce qui a trait aux enveloppes, que les petits canaux situés de part et d'autre de l'œuf et qui le faisaient communiquer avec les suspenseurs, disparaissent au fur et à mesure que s'accroît la membrane cellulosique. Les cloisons qui séparent la zygospore des suspenseurs doivent être considérées comme faisant partie de la périspore ; mais elles ne se cutinisent jamais.

Reprenons maintenant l'étude de la zygospore au point où nous l'avons laissée, c'est-à-dire au moment où le protoplasma, en grande partie transformée en huile, ne paraît plus contenir un seul noyau. On voit, à ce stade, apparaître des corps d'un développement assez complexe, et dont le rôle est longtemps resté pour nous énigmatique. Tout d'abord, à chaque extrémité de la zygospore, dans le voisinage de chacun des pôles, on peut constater la formation, dans le protoplasma pariétal, de petits amas sphériques (fig. 26) d'une substance qui se colore avec beaucoup d'intensité au moyen de l'hématoxyline ou du picrocarmin de Weigert. On se croirait en face de noyaux qui seraient réduits à leur seul nucléole, la membrane

externe ayant totalement disparu ; malheureusement, il m'a été impossible de constater avec certitude si ces corpuscules sphériques proviennent d'une modification des noyaux, ou s'ils sont simplement constitués par du protoplasma de choix. Tout ce que je puis dire, c'est que leur apparition coïncide exactement avec la disparition des noyaux, et que, d'après la manière dont ils se comportent vis-à-vis des réactifs, ainsi que d'après leurs caractères physiques, ce sont évidemment des corps d'origine plutôt nucléaire que protoplasmique. J'ai la conviction qu'ils proviennent des gros noyaux que j'ai décrits au stade dessiné sur la figure 24, et dont la membrane nucléaire se serait résorbée : quelque plausible que me paraisse cette hypothèse, je suis forcé de ne la donner que sous toute réserve, ne pouvant pas m'appuyer sur une observation absolument rigoureuse et incontestable. Voici d'ailleurs ce qu'on peut observer : aux deux extrémités du tonnelet que forme la zygospore, on voit se grouper de 15 à 30 petites sphères constituées soit par les gros noyaux dont la membrane a disparu, soit par un protoplasma de choix : chacune d'elles représente certainement une condensation de la matière vivante de la zygospore, et de la partie la plus pure de cette matière vivante. Tous ces petits corps se colorent d'une façon uniforme ; il est impossible d'y découvrir le moindre détail de structure : ils semblent, à un très fort grossissement, composés de chromatine ou d'une substance homogène, très dense, finement granuleuse, caractères qui sont propres au protoplasma des *Mucorinées* quand il est jeune et en pleine activité.

Toutes ces sphères sont tout d'abord isolées les unes des autres ; mais elles ne sont pas disposées d'une façon quelconque ; elles se placent suivant une zone sphérique, limitant une masse oléagineuse centrale. En un mot, nous avons aux deux extrémités de la zygospore une grosse masse globuleuse d'huile, limitée par un nombre variable de ces petites sphères qui se disposent plus ou

moins régulièrement à sa surface : le volume de ces dernières est très inégal ; le diamètre peut varier de 3 à 6 μ alors que celui de tout le système peut atteindre de 30 à 40 μ . Ces dimensions changent d'ailleurs d'une zygospore à l'autre, mais elles sont à peu près semblables pour une même zygospore.

Les petites masses de la périphérie ne restent pas à cet état : au bout de peu de temps, elles se fusionnent presque toutes ensemble, et produisent ainsi (fig. 27) une sphère unique creuse et pleine d'huile. Chacun des corps ainsi constitués s'entoure d'une double membrane (fig. 28) et nous arrivons ainsi au stade définitif qui dure jusqu'à la germination de la zygospore.

Les figures 26, 27 et 28, montrent la formation à l'intérieur de l'œuf d'un certain nombre d'autres éléments plus ou moins étoilés, ou lobulaires (fig. 29), qui ne sont autre chose que des matières de réserve destinées à être utilisées plus tard. Les corps étoilés sont des amas cristalloïdes de mucorine qui s'agencent sous cette forme particulière ; on en rencontre ainsi plusieurs dans la zygospore ; leur présence a également été signalée sous le même aspect dans le genre *Pilobolus* par M. Vuillemin (1). Ainsi la mucorine, élaborée dès le début de la formation de l'œuf, s'accumule en certains points comme une réserve, et nous la verrons plus tard se transformer en nombreux cristalloïdes octaédriques qui resteront en suspension dans le protoplasma de la nouvelle plante, à la germination ; il ne reste pour ainsi dire plus de ces petits cristalloïdes isolés dans la zygospore au point où nous sommes arrivés. Quant aux corps lobulés, on en trouve en général un ou deux dans la zygospore mûre ; ce sont des produits grassex qu'on doit considérer comme des substances de réserve, et destinés à jouer un rôle nutritif au même titre que la mucorine.

On trouve parfois à l'intérieur de l'œuf des productions

(1) Vuillemin, *loc. cit.*

bizarres (fig. 30), et qui, au premier abord, paraissent assez énigmatiques. Ce sont, en réalité, des formations dont le processus rappelle celui des perles chez les Mollusques. Il faudrait bien se garder, quand on les rencontre sur les coupes, de les confondre avec les organes que j'ai décrits plus haut : ce sont des parcelles de protoplasma, généralement rattachées à la paroi cellulosique et qui s'entourent elles-mêmes de cellulose : le tout peut prendre l'apparence d'un cylindre qui part de la membrane cartilagineuse et plonge dans la zygosporé. Sur une coupe transversale (fig. 30) on trouve, au centre, du protoplasma entouré d'une épaisse enveloppe cellulosique à couches concentriques ; cette enveloppe présente très souvent un nombre considérable de stries rayonnantes, qu'on peut, je crois, attribuer à des plissements longitudinaux causés par la contraction. Ces productions, assez rares dans la zygosporé de *Sporodinia grandis*, sont communes dans celle de quelques autres *Mucorinées* (1).

En résumé, la zygosporé de *Sporodinia grandis*, à son état définitif, a la forme d'un tonnelet peu allongé, recouvert de trois enveloppes dont l'ensemble forme une couche protectrice très épaisse et très résistante. Les suspenseurs ne contiennent plus ni protoplasma ni noyaux, et sont réduits à leur seule membrane, inerte et flétrie. A l'intérieur, on ne trouve presque que de l'huile avec quelques traces de protoplasma pariétal, dans les mailles duquel s'organisent des substances de réserve variées, et les deux corps très importants dont j'ai décrit le développement plus haut (fig. 26, 27 et 28). Que devons-nous penser de ces deux sphères qui offrent tous les caractères d'énormes noyaux ?

M. Dangeard et moi (2) avons signalé leur présence, sans avoir pu suivre leur développement comme je l'ai

(1) Voir P.-A. Dangeard et Maurice Léger, *La reproduction sexuelle des Mucorinées* (loc. cit.)

(2) P.-A. Dangeard et Maurice Léger, *ibid.*

fait depuis, et sans pouvoir par conséquent interpréter leur rôle. Nous disions : « Dans la zygospore mûre, le globule huileux est très gros et le protoplasma est réduit à une couche pariétale dense en certains points, vacuolaire dans le reste ; si cette couche ne montre pas de noyaux, elle renferme des formations difficiles à interpréter, qui se présentent sous les aspects suivants :

« A. La zygospore renferme un très gros corpuscule elliptique vacuolaire coloré en rouge ; dans le protoplasma coloré en violet, existent un certain nombre de vésicules à enveloppe rougeâtre, bien distinctes des vacuoles ordinaires ; quelques-unes sont en contact avec le corpuscule central.

« B. Dans la zygospore, on trouve un corpuscule sphérique, dense, coloré en rouge foncé ; il est entouré d'une zone membraneuse mince, incolore : à ce stade, le protoplasma conserve une teinte violacée.

« C. La zygospore montre deux gros corpuscules sphériques ressemblant, à s'y méprendre, à des noyaux nucléolés, tels qu'on les rencontre dans les plantes supérieures. »

Il est nécessaire de modifier cette description. J'ai reconnu d'abord que le stade A correspond d'une façon certaine à une phase de la formation huileuse ; les vésicules à enveloppe rougeâtre sont certainement des gouttes d'huile entourées d'une mince couche de protoplasma, et qui finissent par se réunir à la grande masse huileuse centrale, avec laquelle elles sont longtemps en contact.

Quant au stade B, il ne peut s'appliquer qu'aux azygospores ; quand nous n'avons vu qu'un seul corpuscule sphérique dans les zygospores, c'était évidemment par suite d'un défaut dans les préparations ou dans les coupes : erreur facile à commettre et qui se comprend aisément, si l'on songe aux difficultés considérables dont ces recherches sont entourées. La vérité est que si les coupes ou les dissections sont bien faites, suivant l'axe de la

zygospore, elles montrent invariablement les deux corps que nous indiquions à l'article C de notre note. Il nous était impossible alors de nous prononcer sur le mode de formation et sur le rôle de ces corps, et nous émettions seulement sous toute réserve cette hypothèse qu'ils étaient peut-être en rapport avec la fécondation.

Les recherches que j'ai faites moi-même depuis cette époque m'ont permis d'exposer d'une façon à peu près complète le développement de ces corps, et d'affirmer qu'ils jouent au moment de la germination un rôle d'une importance capitale.

Nous verrons, au chapitre spécial consacré à l'étude de ce sujet, et nous pouvons l'annoncer dès maintenant, que ce sont ces corps qui, après disparition de leur membrane, fournissent à la plante nouvelle son protoplasma et ses noyaux. D'après ce que nous avons montré, un seul point dans l'histoire de leur formation reste dans l'ombre : leur origine immédiate. Sont-ils d'origine nucléaire ou d'origine protoplasmique ? Résultent-ils d'une fusion de noyaux, ou ne sont-ils constitués que par du protoplasma pur et choisi ? D'où qu'ils viennent, l'étude de la germination nous montre que ce sont des corps appelés à reproduire directement la plante. Aussi proposons-nous de les appeler *sphères embryonnaires* ; nous donnerons le nom de *sphères embryogènes* aux petites masses qui se fusionnent pour les former.

Si nous jetons un coup d'œil sur les différentes phases du développement de ces organes (fig. 31, *a*, *b*, *c*, *d*, *e*) (1), nous ne pouvons nous empêcher de penser qu'ils pro-

(1) Fig. 31 : — *a*) groupement des spères embryogènes ; — *b*) leur fusion en une sphère homogène pleine d'huile ; — *c*) coupe optique de cette sphère montrant l'huile au centre et la matière protoplasmique ou nucléaire à la périphérie.

Il est important de faire remarquer que cette matière ne se modifie en aucune façon et que l'huile qu'elle entoure provient du protoplasma primitif de la zygospore).

d) Apparition de la première membrane ; — *e*) Etat définitif de la sphère embryonnaire.

viennent de la réunion d'un certain nombre de noyaux ; mais, encore une fois, cela n'est pas prouvé, et ce sont peut-être simplement des kystes de protoplasma. Quelle que soit l'hypothèse que nous admettions, devons-nous considérer ces *sphères embryonnaires* comme le résultat d'une fécondation ? C'est une question réellement délicate et peu facile à résoudre, quand on voit combien tout ce que nous avons observé dans la zygospore de *Sporodinia grandis* est différent de ce qu'on trouve partout ailleurs dans le règne végétal ; et nous verrons plus loin que les zygospores de toutes les autres *Mucorinées* sont constituées sur le même modèle.

Avant de nous prononcer, examinons ce qui se passe dans les azygospores qu'on rencontre fréquemment en même temps que les zygospores chez *Sporodinia grandis*. Ces organes, pendant leur croissance, passent par des états successifs absolument identiques à ceux qui marquent les différentes périodes de l'évolution de la zygospore : chaque azygospore est formée par un renflement piriforme, rempli de protoplasma dense avec de nombreux noyaux ; une cloison se forme, qui isole ainsi cette azygospore de son suspenseur : la membrane externe se cutinise, et présente les mêmes ornements que celle de la zygospore. Protoplasma, noyaux, enveloppes, mucorine, etc., tout se modifie ou se forme exactement comme dans l'œuf ordinaire ; mais, à la maturité, on constate qu'il n'y a qu'une seule *sphère embryonnaire* dans chaque azygospore. Ayant eu à ma disposition des azygospores à tous les stades du développement, j'ai pu les étudier dans les mêmes conditions que les zygospores, et constater que la *sphère embryonnaire* a la même constitution, et se forme de la même façon dans les deux sortes d'organes. La formation des *corpuscules embryogènes*, leur fusion, etc., tous ces stades existent dans les azygospores comme dans les zygospores ; il y a identité absolue dans la formation et la constitution de ces corps. L'étude de la germination nous montre que la *sphère embryonnaire*

d'une azygospore est capable à elle seule de reproduire un *Sporodinia* comme les deux sphères d'une zygospore. J'ai rencontré pour la dernière fois *Sporodinia grandis* sur des oreilles de Judas au mois de janvier dernier. Je possède en ce moment même (avril) des germinations très belles de zygospores et d'azygospores de cette plante : j'ai vérifié encore une fois sur elles ce que j'avais déjà observé, à savoir qu'il n'y a pas la plus petite différence anatomique entre les deux organes. Je n'ai pas cru devoir reproduire pour la description des azygospores un exposé détaillé et des dessins qui auraient fait double emploi avec ce que j'ai dit de la zygospore : l'existence d'un seul corps embryonnaire au lieu de deux est le seul caractère différentiel d'une azygospore. Azygospore et zygospore représentent donc des organes homologues au point de vue anatomique et physiologique : si la zygospore provient de l'union de deux cellules différentes, nous sommes bien forcés d'admettre que rien ne rappelle dans ce cas particulier la conjugaison au sens absolu du mot, c'est-à-dire une fusion de deux cellules, protoplasma à protoplasma, noyaux à noyaux. A quelque époque de sa vie que nous ayons pris la zygospore de *Sporodinia grandis*, il nous a été impossible d'y trouver la moindre trace de la fusion des noyaux venus des gamètes. D'ailleurs l'analogie rigoureuse qui existe entre les zygospores et les azygospores prouve qu'il ne faut pas attacher une importance trop grande à la fusion des branches copulatrices chez les *Mucorinées*. C'est un phénomène d'une utilité contestable, et qui n'a au fond que la valeur d'une anastomose, puisque la formation des azygospores à l'extrémité d'un renflement unique conduit à un résultat identique, le renouvellement de la plante.

Ce que nous sommes autorisés à dire, c'est que nous assistons, dans les deux cas, à une véritable rénovation totale du protoplasma, dans la formation des sphères embryonnaires. Celles-ci, véritables germes de la plante future, doivent être considérées comme des éléments

nouveaux, produits d'une transformation complète du protoplasma et de ses noyaux. Si ces sphères sont le résultat d'une fusion de noyaux, nous pouvons à la rigueur dire qu'il y a fécondation au sens histologique du mot ; le phénomène dans ce cas rappellerait jusqu'à un certain point, avec une complexité plus grande, ce qui se passe chez d'autres Champignons (1), *Urédinées*, *Ustilaginées*, etc.

Que ces sphères proviennent de la fusion des noyaux ou d'une transformation du protoplasma, nous n'en sommes pas moins forcés de les considérer comme des embryons. Leur co-existence dans les azygospores et dans les zygosporos diminue singulièrement l'importance des branches copulatrices. Nous pourrions même faire observer que la présence de deux *sphères embryonnaires* situées aux deux extrémités de la zygosporos, semblerait prouver que chacune d'elles correspond à la branche du côté de laquelle elle est située, et que la fusion des protoplasmes ne serait peut-être pas aussi complète que pourrait le faire supposer le seul examen morphologique du phénomène. En un mot, rien ne prouve que les deux *sphères embryonnaires* d'une zygosporos proviennent du protoplasma fusionné de deux cellules différentes ; la comparaison avec ce qui se passe dans les azygospores semble même indiquer le contraire.

On voit, d'après tout ce qui précède, combien il est difficile de se prononcer sur la valeur réelle de la zygosporos : la question est évidemment très complexe, et il y a peut-être quelque audace à formuler une opinion précise. Toutefois, si nous admettons qu'un embryon est le résultat d'une fécondation, et que sa présence caractérise l'œuf, nous dirons que la zygosporos est un œuf, non point à cause de la réunion des rameaux renflés qui la supportent, mais par le seul fait de la présence des *corps embryonnaires* développés dans les conditions que

(1) Dangeard et Sappin-Trouffy, *Le Botaniste* (1893-95).

nous avons exposées. C'est pour le même motif que nous considérerons les azygospores comme des œufs au même titre que les zygosporos.

MUCOR

Mucor mucedo, *M. racemosus*, *M. circinelloides*, *M. rubescens*,
sp. nov. *M. rigidus*. sp. nov.

Le genre *Mucor* est celui qui a donné son nom à la famille des *Mucorinées*. On en a décrit environ 90 espèces (1), et il y en a probablement un nombre beaucoup plus considérable qui a échappé à l'attention des observateurs. Presque tous ceux qui ont étudié ces champignons pendant quelque temps ont trouvé de nouveaux représentants de ce genre extrêmement répandu. Il est malheureusement très difficile, avec les documents que nous possédons, de déterminer la plupart des espèces : à part trois ou quatre bien connues, il n'y en a peut-être pas vingt dont les caractères aient été établis d'une façon précise.

Comme tous les auteurs qui m'ont précédé dans ce genre de recherches, j'ai rencontré dans mes cultures une grande quantité d'espèces du genre *Mucor* ; parmi celles-ci, les unes, peu étudiées ou difficiles à déterminer, ou même nouvelles, ont été pour la plupart laissées de côté ; d'autres, comme *Mucor mucedo*, *M. racemosus*, *M. circinelloides*, qui sont bien connues, seront décrites ici au point de vue histologique, car tout le monde peut les trouver aisément, et contrôler ainsi les résultats que j'ai obtenus. D'ailleurs, ce genre est d'une homogénéité remarquable ; ses espèces ont à peu près toutes la même structure, et si, parmi les nombreux échantillons que j'ai eus entre les mains, et chez lesquels j'ai rencontré

(1) Saccardo, *Sylloge fungorum*, Mucoraceæ.

une constitution et un développement identiques, j'ai cru devoir prendre plusieurs types, c'est que les uns possèdent des organes qui sont rares ou qui manquent même totalement chez les autres. C'est ainsi que j'ai étudié les chlamydospores et le thalle bourgeonnant de *Mucor racemosus* et de *M. circinelloides*, tandis que cette étude ne pouvait se faire pour *M. mucedo*, chez lequel les chlamydospores sont des organes exceptionnels, et le thalle ne forme pas de ferment sphérique. J'ai eu sous les yeux depuis deux ans une dizaine peut-être d'espèces qui m'ont paru nouvelles; je n'en citerai que deux dont les caractères m'ont semblé bien nets, et dont j'ai fait de nombreuses cultures. Je pense, comme M. Vuillemin (1), qu'il est bon de ne pas encombrer la science d'une grande quantité de types nouveaux, alors que la plupart de ceux déjà admis sont si mal connus.

Je me contenterai de citer cinq espèces : *Mucor mucedo*, *M. racemosus*, *M. circinelloides*, *M. rubescens* sp. nov. et *M. rigidus*, sp. nov.

Mucor mucedo L. — Je crois devoir mettre au premier rang cette espèce, qui est une des moisissures les plus communes, et qui peut être considérée comme la mieux décrite des *Mucorinées*; tous les auteurs en ont parlé. Elle était regardée autrefois comme l'archétype de la famille, et on admettait volontiers que la plupart des espèces de *Mucorinées* n'étaient que le résultat d'une transformation de cette plante. Les beaux travaux de MM. Van Tieghem et Le Monnier (2), et de Brefeld (3), ont montré que le champignon n'est nullement polymorphe, et qu'il est doué de caractères propres et invariables. Je n'ai point à revenir sur la description donnée par de tels maîtres, et vais indiquer immédiatement la structure histologique des organes.

(1) Vuillemin, *Etudes biologiques sur les champignons*.

(2) Van Tieghem et Le Monnier, *Recherches sur les Mucorinées* (loc. cit.).

(3) Brefeld, *Untersuchungen über Schimmelpilze* (1872).

Le thalle de *Mucor mucedo* est, lorsqu'il est jeune, rempli de protoplasma et de noyaux, comme celui de *Sporodinia* ; quand les tubes sporangifères commencent à se développer à sa surface (fig. 32), le protoplasma et les noyaux, abandonnant en partie le thalle, affluent dans les filaments de néoformation. Les noyaux ont la même structure que ceux de *Sporodinia* : ils sont sphériques, et possèdent un nucléole central, entouré d'une zone claire, limitée elle-même par une membrane.

Un filament en voie de croissance (fig. 33) montre son protoplasma et ses noyaux accumulés surtout vers l'extrémité : tous ces noyaux, dans le thalle et les filaments, se multiplient par division directe. Le tube sporangifère passe par toutes les phases que nous avons signalées chez *Sporodinia grandis* ; mais, quand son extrémité devient sphérique, la membrane du renflement, qui commence à s'incruster de cristaux d'oxalate de chaux, n'est pas diaphane comme celle de *Sporodinia*, et on ne peut examiner les parties qu'elle recouvre qu'après l'avoir déchirée, ce qu'on obtient facilement par pression (fig. 34). Les colorations peuvent se faire avant l'écrasement du jeune sporange, et les réactifs pénètrent sans qu'il soit nécessaire d'employer aucun artifice. On peut ainsi voir que le protoplasma, dont est gonflé le renflement sporangial, est très dense et contient une quantité considérable de noyaux.

La division du protoplasma en deux zones, l'une interne, columellaire, et l'autre périphérique, sporigène, se passe comme nous l'avons indiqué précédemment, avec un groupement des noyaux en strates concentriques dans la région pariétale ; mais les préparations sont presque toujours moins belles que celles de *Sporodinia*, parce qu'on est forcé de faire éclater la membrane pour étudier l'intérieur du sporange. Tout le protoplasma sporigène se divise en une grande quantité de petits polyèdres (fig. 35), où sont renfermés en général de 3 à 7 noyaux. Quand on fait éclater le sporange en le comprimant

entre deux lamelles, le protoplasma intersporaire, ne pouvant résister à la pression, se rompt en plusieurs points, et les polyèdres sporaires s'étalent par groupes irréguliers. Brefeld (1) a donné une description détaillée et très exacte du protoplasma intersporaire et de son rôle, et je n'ai point à y revenir.

La columelle, à ce stade, est formée ; on y trouve de nombreux noyaux disséminés dans un protoplasma peu dense et finement granuleux. Au fur et à mesure que les spores se développent, le protoplasma columellaire se résorbe, et quand elles sont mûres, la columelle arrive à être complètement dépourvue de protoplasma : une grande partie des noyaux persistent seuls (fig. 36), mais présentent une modification importante de leur structure ; ils n'ont plus de cytoplasme ni de membrane nucléaire, ils ne possèdent plus que leur nucléole. Ces noyaux ne sont pas libres dans la cavité columellaire ; ils se fixent à la paroi, s'y soudent, et en constituent une sorte d'ornement : c'est à ce rôle seul qu'ils me paraissent destinés. Pour se rendre compte de la disposition que je signale, il faut pouvoir observer la face interne de la membrane de la columelle : il est nécessaire pour cela de la disséquer, d'y tailler des lambeaux (fig. 36) que l'on rabat comme le montre la figure. C'est une opération évidemment délicate, mais qu'on peut arriver à pratiquer d'une façon convenable chez *Mucor mucedo*, à cause de la grande dimension des organes. On commence par se procurer des columelles âgées, qu'on trouve aisément après la dissémination des spores ; il ne doit rester à la surface de la columelle aucune spore, ni surtout aucune trace de la substance gélatineuse intersporaire, qui gênerait beaucoup les observations. On colore ensuite les objets pendant vingt-quatre heures à l'hématoxyline de Böhmer additionnée de quelques gouttes d'acide acétique. On installe alors chaque columelle sur une lame de verre, et on commence

(1) Brefeld, *loc. cit.*

la dissection au moyen de très fines aiguilles, et sous un faible grossissement. On peut ainsi tailler dans la columelle, ou même dans les filaments qui ont toujours un diamètre assez considérable dans cette espèce, des lanières plus ou moins régulières. On arrive à constater ainsi que les noyaux se comportent dans les filaments comme dans les columelles : pour se bien rendre compte de leur disposition, il faut les examiner surtout de profil, c'est-à-dire juste au niveau des plis que l'on produit en rabattant les lambeaux plus ou moins déchiquetés. Je me suis aperçu, en opérant de la sorte, que les noyaux, aussi bien dans la columelle que dans les filaments âgés, se souident littéralement à la paroi, et s'y creusent, pour ainsi dire, une petite niche, dans laquelle ils sont encastrés. Chaque noyau émerge de la cupule ainsi formée, avec l'aspect d'une calotte hémisphérique, l'autre moitié restant cachée dans la cupule.

Les spores jeunes contiennent un protoplasma dense et homogène, et sont pourvues du même nombre de noyaux que le polyèdre d'où elles proviennent, de 3 à 7 par conséquent (fig. 37). Peu à peu, l'huile se forme et s'accumule au centre de la spore : le protoplasma devient pariétal, et les noyaux eux-mêmes se rangent contre la paroi : à maturité, les spores sont difficiles à colorer : leur exospore est épaisse, et pour que les substances colorantes puissent les pénétrer, il est bon de les écraser d'abord dans le collodion entre deux lames de verre par une pression énergique. Les noyaux sont presque invisibles à cet état, et n'ont plus que l'apparence de petites masses sombres enserrées dans le protoplasma pariétal peu abondant.

La membrane des filaments âgés devient triple comme dans *Sporodinia grandis* (fig. 36); mais aucune des trois enveloppes accolées ne se teinte ou ne se fonce ; elles restent claires.

Le développement de la zygospore s'effectue de la même manière que chez *Sporodinia grandis* ; mais le système

zygospore est moins développé en général que dans cette dernière espèce, où sa présence est constante. J'ai obtenu les zygospores de *Mucor mucedo* dans les cultures sur crottin de cheval, et j'ai remarqué qu'elles se produisaient quand le milieu commençait à se dessécher ; je me garderai bien d'exprimer ici une opinion sur les conditions particulières qui favorisent le développement des zygospores : malgré tout ce qu'on en a dit, ces conditions sont encore mal connues, et varient certainement suivant les espèces.

J'ai pu me procurer ces zygospores à tous les états de développement, et j'ai retrouvé toutes les phases que j'ai décrites chez *Sporodinia*. Les filaments renflés, qui constituent les gamètes, garnis de protoplasma et de noyaux accumulés vers leur extrémité, arrivent au contact, et dans chacun d'eux apparaît une cloison qui sépare la zygospore de ses suspenseurs (fig. 38). La zone ainsi délimitée contient un nombre considérable de noyaux également répartis dans la masse protoplasmique, et lorsque les membranes au contact se sont résorbées, le protoplasma résultant de la fusion des corps oogènes présente tous les caractères que j'ai indiqués précédemment. Dense et homogène au début, rempli de noyaux qui sont tellement nombreux qu'ils se touchent presque, il devient trabéculaire et se transforme peu à peu en huile, passant avec les noyaux par tous les stades que nous avons décrits à propos de *Sporodinia grandis*.

Les enveloppes de la zygospore de *Mucor mucedo* montrent le même mode de croissance et ont exactement le même aspect, la même constitution, et par conséquent la même valeur que dans *Sporodinia*. Enfin les *sphères embryonnaires* existent également, et j'ai suivi leur formation depuis la fusion des petits corps embryogènes. Ici encore il m'est impossible de me prononcer sur la véritable origine de ces derniers. Les deux *sphères embryonnaires* occupent chacune (fig. 39) le voisinage de la cloison qui sépare la zygospore des suspenseurs.

Chez *Mucor mucedo* la mucorine fait également son apparition dès que la fusion des protoplasmes a été opérée, et elle forme plus tard de petits amas de réserve disséminés dans le protoplasma pariétal de la zygospore mûre. Celle-ci contient en outre des corps oléagineux, et il n'est pas rare, dans les coupes, d'y faire des sections de cylindres cellulotiques, rattachés à la paroi, et que nous avons déjà vus chez *Sporodinia* (fig. 39). Il y a en somme une similitude absolue de structure entre la zygospore de *Mucor mucedo* et celle de *Sporodinia grandis*. La seule différence est purement morphologique. L'une est sphérique (*Mucor mucedo*), tandis que l'autre a la forme d'un tonnelet; enfin les crêtes qui ornent la surface de l'enveloppe cutinisée ou périspore, sont assez régulièrement coniques chez *Sporodinia*, tandis que chez *Mucor mucedo* elles sont garnies d'aspérités irrégulières.

Je n'ai jamais rencontré d'azygospores chez *Mucor mucedo*, et je ne pense pas que ces organes aient été signalés.

Mucor racemosus.—*Mucor racemosus* est une espèce à peu près aussi connue que *M. mucedo*; aussi ne donnerai-je pas ici sa description. J'ai rencontré plusieurs fois cette petite *Mucorinée* dans mes cultures, et j'ai pu en faire une étude assez complète, sauf pour les zygospores que je n'ai jamais pu obtenir en nombre suffisant pour en tirer profit. Je me suis pourtant mis, autant qu'il m'était possible, dans les conditions indiquées par M. Bainier (1), et c'est précisément pendant le mois de décembre et de janvier, considérés par cet auteur comme la saison la plus favorable, que j'ai cultivé cette plante sur des milieux nutritifs variés. Ses zygospores sont d'ailleurs très petites, et il n'est pas facile de les examiner histologiquement. Mais *Mucor racemosus* peut servir de type pour l'étude des chlamydo-spores qu'on rencontre à peu près partout dans ses organes.

(1) Bainier. *Sur les zygospores des Mucorinées*, An. des sc. natur. 6^e série, t. XV, 1883.

En outre son thalle présente la forme bourgeonnante. C'est pour ces motifs que j'ai tenu à exposer la structure de cette plante. D'ailleurs Schmitz (1) a écrit quelques lignes sur elle, et a vu des noyaux dans le protoplasma des filaments et des spores ; mais cet observateur ne paraît pas avoir fait une étude approfondie de cette plante dont il ne parle qu'incidemment, dans des considérations générales sur le noyau des thallophytes : son travail n'est accompagné d'aucune figure.

Le thalle ordinaire de *Mucor racemosus*, celui qu'on obtient dans un milieu nutritif peu liquide et non sucré, offre la même constitution que celui des autres Mucorinées : le protoplasma et les noyaux y sont disposés de la même manière et y ont la même structure que chez *Mucor mucedo*, par exemple ; il est donc inutile d'insister davantage sur ces détails.

L'appareil sporangifère présente quelques particularités intéressantes. Il est très facile à étudier chez *Mucor racemosus* à cause de la variété de dimensions qu'on trouve dans les sporanges. Ceux-ci sont en effet de toutes les tailles ; on en trouve qui contiennent plusieurs centaines de spores ; dans d'autres cas, ils arrivent à n'en posséder qu'une vingtaine et peuvent même n'en renfermer que deux ou trois. C'est le cas d'un grand nombre de sporanges qui naissent latéralement sur le trajet des filaments principaux : on sait en effet que *Mucor racemosus* est pourvu d'un système sporangial très ramifié.

Schmitz qui n'a probablement pas étudié ce champignon à l'état jeune, déclare qu'il a vu, dans les filaments, le protoplasma en traînées pariétales contenant un grand nombre de petits noyaux. En réalité, comme partout ailleurs, les filaments jeunes et même adultes sont remplis complètement par le protoplasma (fig. 40) ; celui-ci

(1) Schmitz. *Untersuchungen über die Zellkerne der Thallophyten* (loc. cit.).

garnit également tout le renflement sporangial. L'étude des petits sporanges étant extrêmement facile dans cette espèce, et leur constitution étant la même que celle des grands, nous croyons qu'il est préférable de décrire les premiers.

Lorsque sur un filament principal doit se former un filament sporangial secondaire, une cloison se produit immédiatement au-dessous du point où naît le filament latéral. Au-dessous de cette cloison, le tube principal est complètement vide de protoplasma sur une grande étendue: au-dessus d'elle, une partie du protoplasma continue sa marche ascendante, pendant que presque tout le reste s'engage dans le diverticule latéral (fig. 41) ; l'extrémité du jeune filament se renfle bientôt, et tout le protoplasma y pénètre (fig. 42). Il en reste à peine quelques traces avec quelques noyaux épars dans toute l'étendue du filament secondaire : au voisinage de la cloison dans le filament principal, en rencontre un amas plus dense de protoplasma et de noyaux. La division du protoplasma en sporigène et en columellaire (fig. 43) se fait comme ailleurs, et grâce à une prolifération des noyaux situés au voisinage de la cloison, le filament secondaire, au moment de la division polyédrique du protoplasma sporigène, commence à se remplir de nouveau de protoplasma et de noyaux (fig. 44).

Les polyèdres sporigènes contiennent de 3 à 7 noyaux. Les spores en contiennent autant qu'eux, mais dans les sporangés où elles sont en grande quantité, le nombre des noyaux dépasse rarement 4 par spore ; moins les sporanges contiennent de spores, plus celles-ci possèdent de noyaux, et dans les petits sporanges qui n'ont que de 3 à 10 spores, le nombre des noyaux est presque constamment de 6 ou de 7 par spore (fig. 45 et 46).

La columelle et les spores mûres (fig. 47) ont une constitution identique à celle des mêmes organes chez *Mucor mucedo*. Les spores sont en général à peu près sphériques, quelquefois légèrement ovales, et on y dé-

couvre les noyaux avec un peu plus de facilité que chez *M. mucedo*. Schmitz (*loc. cit.*) prétend que les spores de *Mucor racemosus* n'ont qu'un seul noyau : on voit que je m'éloigne considérablement de son opinion. Il est vrai que cet auteur n'a dû attacher qu'une importance secondaire à la structure de cette plante, et qu'il l'a probablement étudiée à la hâte ; un examen attentif ne peut en effet laisser le moindre doute : *Mucor racemosus* est une des *Mucorinées* les plus simples à observer, presque tous les colorants l'imprègnent, et la description que j'en donne est facile à vérifier.

La structure des chlamydospores ne me paraît pas avoir été signalée jusqu'à présent. Cependant ces organes ont été vus dans beaucoup d'espèces de *Mucorinées* et leur développement morphologique est bien connu. On les rencontre partout chez *M. racemosus* dans le thalle, dans les filaments sporangifères, jusque dans les columelles ; c'est en quelque sorte un caractère propre de l'espèce. Comme j'ai constaté qu'elles ont toutes la même structure, je pense qu'il est suffisant d'exposer la formation et la constitution des chlamydospores dans une partie quelconque de *Mucor*, dans les filaments sporangifères, par exemple.

Les auteurs décrivent les chlamydospores comme des kystes protoplasmiques isolés du reste des filaments par des cloisons. Cela est vrai, mais il ne faut pas croire que cette formation entraîne la disparition du protoplasma dans les parties du filament où il n'existe pas de chlamydospores.

Il en reste souvent une assez grande quantité : c'est ainsi que j'ai vu maintes fois des chlamydospores prendre naissance entre deux autres complètement formées.

Ces organes peuvent naître sur tout le trajet des filaments, et il arrive souvent que plusieurs d'entre elles se développent à la fois. Dans ce cas, on voit de place en place sur le filament (fig. 48) se former de petits amas de protoplasma plus condensé qu'ailleurs, sans qu'on puisse

leur assigner une ligne de démarcation exacte avec les parties environnantes ; chacune de ces masses protoplasmiques contient à peu près une vingtaine de noyaux : le nombre, dans certains cas, peut tomber à 7 ; il peut, dans d'autres, monter à 30. Des cloisons (fig. 49) apparaissent de part et d'autre de chaque îlot protoplasmique, et la chlamydospore est déjà formée.

J'ai remarqué que très souvent cette condensation du protoplasma est due à une prolifération locale, et que les noyaux se divisent sur place, sans que d'autres venus du filament prennent part à ce développement. Il arrive même assez fréquemment que quelques noyaux se divisent encore par le mode direct après l'apparition des cloisons. Je n'ai jamais rencontré de mucorine dans la chlamydospore (1), mais le protoplasma environnant en contient quelques cristalloïdes.

Un peu plus tard (fig. 50) la chlamydospore se renfle, de façon que son diamètre dépasse celui du tube où elle a pris naissance, et alors, ou bien elle s'arrondit, ou prend une forme en tonnelet, ou enfin reste rectangulaire : ces trois formes différentes ont la même valeur et se rencontrent souvent ensemble sur le même filament ; il ne semble pas qu'aucune cause appréciable puisse être invoquée pour expliquer leur raison d'être respective. Au moment où la chlamydospore commence à prendre son apparence définitive, le protoplasma y subit une transformation en huile, et devient pariétal ; les noyaux suivant cette évolution, se retirent vers la périphérie. Au stade définitif (fig. 51), le protoplasma ne se montre plus que comme une couche très mince, qui recouvre la paroi interne de la chlamydospore, et où les noyaux sont devenus très petits et très difficilement visibles. Il semble dans certains organes des *Mucorinées*, spores, chlamydospores, etc., où les noyaux s'effacent peu à peu, que ceux-ci sont

(1) Cette constatation ne peut modifier notre opinion sur cette substance, dont le rôle apparaît si nettement dans la zygospora.

seulement comprimés par le protoplasma dont les travées deviennent de plus en plus fines. Il est certain que dans une chlamydospore mûre, quand l'huile a presque tout envahi, ils ont perdu tous leurs caractères, et n'ont plus guère que l'apparence d'une petite masse sombre mal définie.

On a signalé à l'intérieur de certaines chlamydospores la formation d'une cloison oblique, suivant un plan diagonal, et séparant l'organe en deux compartiments. J'ai remarqué que cette cloison n'apparaît guère que vers la fin du développement, quand le protoplasma se transforme en huile ; les chlamydospores qui en sont pourvues ne m'ont jamais paru différer des autres par aucun autre détail de leur constitution. J'ai vu assez fréquemment aussi, chez *Mucor racemosus*, deux filaments qui s'accolaient sans se souder, sur presque toute leur longueur. Très souvent, dans ce cas, les chlamydospores se forment au même niveau dans chaque filament, de sorte qu'elles sont accolées elles-mêmes et paraissent n'en former qu'une seule séparée en deux parties par une cloison longitudinale ; je n'ai jamais vu de communication s'établir entre les deux filaments, pas plus qu'entre les chlamydospores, et cette apparence de spores soudées n'est que superficielle ; elles sont seulement accolées, et, à maturité s'isolent complètement les unes des autres. Il me paraît difficile d'interpréter cette juxtaposition de certains filaments et des chlamydospores qu'ils contiennent.

La chlamydospore, en état de germer, possède 3 enveloppes faciles à mettre en évidence par les procédés ordinaires : une externe, mince, qui est formée par la membrane même du filament chlamydosporifère, et par les cloisons qui délimitent la spore dans le filament : cette membrane a donc la même valeur morphologique que la périspore de l'œuf, nous lui donnerons le même nom. Au-dessous d'elle se trouve une épaisse membrane cellulosique qui constitue l'exospore, et, directement ap-

pliquée sur le protoplasma, une dernière membrane extrêmement délicate, qui est l'endospore. Il nous paraît logique de proposer cette nomenclature, qui correspond dans la chlamydospore à une constitution analogue à celle de la zygosporé (1).

Il nous reste à dire quelques mots sur le facies particulier que présente le thalle de *Mucor racemosus*, quand on cultive cette espèce sur certains milieux comme une solution de glucose, par exemple; je veux parler de la forme bourgeonnante (fig. 52).

J'espérais, en étudiant cette forme singulière, que je rencontrerais peut-être un état spécial des noyaux, et que le développement des spores bourgeonnantes pouvait offrir un certain intérêt anatomique. Je dois avouer que j'ai été déçu dans mon attente; les choses se passent simplement; le thalle se scinde en un certain nombre d'articles de grandeur variable qui prennent la forme sphérique quand ils sont courts: cette scission se produit par étranglement progressif, et n'est accompagnée d'aucune modification du protoplasma ou des noyaux. Chaque article contient un nombre de noyaux variable selon les dimensions, et en possède exactement autant que la portion du thalle qui l'a formée. Les spores ainsi constituées, qu'on appelle spores bourgeonnantes, sont pourvues d'un protoplasma plus ou moins dense et d'un nombre quelconque de noyaux: elles ont une membrane mince à double contour, et les noyaux restent visibles jusqu'à la germination. Elles ne doivent pas être considérées d'ailleurs comme

(1) En somme, il y a deux cas dans la formation des membranes chez les différentes sortes de spores des *Mucorinées*: celui des sporangiospores qui, à maturité, n'ont pas de périspore, la membrane du sporange leur en tenant lieu pendant leur développement, et cette membrane étant caduque. Les sporangiospores n'ont donc qu'une exospore et une endospore. Dans le second cas il y a 3 membranes, une périspore, formée toujours par la membrane même de la cellule qui a donné naissance à la spore, une exospore et une endospore. Tel est le cas des zygosporés, des azygosporés et des chlamydosporés.

des organes résistants, et leur structure n'a rien de complexe.

Mucor circinelloides. — Van Tieghem. — J'ai rencontré assez fréquemment cette espèce dans mes cultures, et je l'ai encore récoltée au mois de février dernier sur des oreilles de Judas en putréfaction, ce qui tendrait à prouver qu'elle peut vivre en parasite sur les grands champignons. C'est M. Van Tieghem (1) qui l'a le premier décrite dans un court passage où il a fait connaître d'une façon très précise son port et son mode de fructification. M. Gayon (2) a étudié depuis cette espèce au point de vue de la fermentation, car, ainsi que *Mucor racemosus*, elle possède, dans certains milieux de culture, un thalle fragmenté dont les cellules peuvent provoquer la fermentation alcoolique.

M. Bainier (3) a le premier signalé les zygospores de cette plante, mais je n'ai pu me les procurer. Enfin M. Vuillemin (4) a donné quelques nouveaux détails sur son développement, et observé ses chlamydospores. Aucun de ces auteurs ne semble d'accord sur les formes et les dimensions des spores. MM. Van Tieghem, Gayon, Vuillemin les déclarent ovales, mais en donnant des mesures différentes; M. Bainier dit qu'elles sont sphériques: et nous avons ainsi un bel exemple de la facilité avec laquelle on peut déterminer les *Mucorinées*. Je pense pour ma part que ces spores peuvent avoir l'une ou l'autre forme, mais qu'elles sont plus souvent ovoïdes. Ce polymorphisme des spores n'est pas rare chez les *Mucorinées*, et je l'ai constaté dans beaucoup d'espèces, souvent dans le même sporange. Il ne faut pas non plus attacher une importance exagérée aux dimensions. Il existe peu de *Mucorinées* où

(1) Van Tieghem, *Nouvelles recherches sur les Mucorinées*, p. 94 (*loc. cit.*).

(2) *De la fermentation alcoolique avec le Mucor circinelloides* (Annales de physique et de chimie, t. XIV, p. 258, 1878).

(3) Bainier, *Nouvelles observations sur les zygospores des Mucorinées* (Annales des sciences naturelles, 6^e série, t. XIX, 1884).

(4) Vuillemin, *Etudes biologiques sur les champignons* (*loc. cit.*).

l'on ne puisse trouver dans le même sporange des différences du simple au double dans le diamètre des spores : la taille n'a donc, dans beaucoup de cas, qu'une valeur tout à fait relative.

L'étude histologique de cette espèce m'a montré que sa structure est absolument semblable à celle des autres *Mucor*. Les filaments sporangifères jeunes (fig. 53) sont toujours remplis de protoplasma et de noyaux. La division du protoplasma se produit comme dans les autres espèces, et les spores jeunes ou mûres contiennent en général de 3 à 5 noyaux (fig. 54).

On sait que certains sporanges ont une membrane qui n'est pas entièrement diffluente, et qu'après la chute des spores, il subsiste parfois des vestiges, de formes variées, de cette membrane. On en rencontre souvent une moitié hémisphérique au milieu de laquelle apparaît la columelle (fig. 55). J'ai pu voir que la columelle, comme dans les autres espèces, est le siège d'une transformation des noyaux comme celle que j'ai décrite plusieurs fois déjà. Ils se fixent à la paroi comme chez *Mucor mucedo*. Quant aux débris de la membrane sporangiale, ils sont anhystes et ne présentent jamais un seul noyau.

Mucor circinelloides a des chlamydospores, comme l'a montré M. Vuillemin, et leur mode de formation rappelle à s'y méprendre ce qui se passe chez *M. racemosus* (fig. 56). Le nombre des noyaux est à peu près le même, et les chlamydospores sont tantôt sphériques, tantôt quadrangulaires. Vues isolément, elles pourraient être facilement confondues avec celles de *M. racemosus*. A maturité, elles sont, comme ces dernières, revêtues d'une périspore, d'une exospore et d'une endospore.

L'examen du thalle segmenté de *Mucor circinelloides* (fig. 57) a été la confirmation de ce que j'avais déjà vu chez *Mucor racemosus*, à savoir que le mode de développement des cellules bourgeonnantes se produit par scission directe en articles plus ou moins allongés et contenant un nombre indéterminé de noyaux.

Mucor rubescens sp. nov. — Je donne ce nom à un petit *Mucor* très élégant, qui dans des conditions normales d'existence, a des sporanges absolument rouges, apparence due presque exclusivement à la couleur des spores. J'ai rencontré pour la première fois cette espèce en février 1894 sur du moût de bière desséché. J'ai pu en faire de nombreuses cultures et en obtenir les zygosporos.

Le thalle (fig. 58) de cette plante se ramifie à la manière de celui de *Mucor mucedo*. Ses ramifications supportent de place en place des tubes sporangifères eux-mêmes très divisés, de sorte que, lorsqu'ils sont serrés les uns contre les autres, leurs différentes branches sont entremêlées ; chaque branche se termine par un sporange sphérique ayant environ 0^{mm} 2 de diamètre.

Ces petits sporanges sont extrêmement nombreux, et dans une culture abondante, ils forment au-dessus du substratum, qu'ils cachent complètement, un véritable tapis rouge.

Leur membrane diffluente recouvre des spores rousses ovoïdes dont le plus grand diamètre mesure généralement 5 ou 6 μ . Chacune prise individuellement n'est pas rouge, mais semble, au microscope, teintée de roux. C'est leur agglomération qui donne au sporange sa couleur rouge vermillon assez vive.

Le développement anatomique de cette *Mucorée* n'offre rien de spécial ; je l'ai suivi à tous les stades et j'ai trouvé un appareil sporangifère qui se rapproche beaucoup comme constitution de celui de *Mucor mucedo* ou de *M. racemosus*. Les polyèdres sporigènes contiennent de 3 à 6 noyaux, qu'on retrouve plus tard dans les spores (fig. 59.) La columelle ne présente aucun intérêt particulier (fig. 60) et ne pourrait être considérée comme un caractère distinctif de cette plante.

Quant aux zygosporos, elles sont produites par des ramifications du thalle, et je ne les ai jamais rencontrées qu'à l'intérieur du milieu nutritif ; elles sont très petites ; leur grosseur maxima est de 0^{mm} 08, leur diamètre moyen

de 0^{mm} 06 ; c'est-à-dire qu'elles ne sont pas faciles à étudier. Néanmoins comme j'en ai obtenu un très grand nombre, j'ai pu les observer et en faire des coupes, après les avoir incluses en masse dans le collodion. Les filaments du thalle qui leur donnent naissance émettent de petits bourgeons isomorphes qui se rencontrent et se conjuguent comme chez les autres *Mucor* : il n'y a aucune différence d'aspect entre les deux cellules fusionnées (fig. 61). La périspore est noirâtre et les ornements dont elle est recouverte ont beaucoup de ressemblance avec ceux qu'on trouve sur la zygospore de *Sporodinia grandis* : ce sont de petits cônes arrondis. La zygospore de *Mucor rubescens* est sphérique.

Quoique j'aie obtenu une grande quantité d'œufs, il m'a été impossible de suivre leur développement aussi complètement que chez *Sporodinia grandis* ou *Mucor mucedo* : cela tient à ce qu'il faut les chercher dans le milieu nutritif lui-même où il est difficile de suivre leur croissance, et de plus à leur extrême petitesse qui en rend la dissection très minutieuse. Lorsqu'on en examine un petit nombre, on ne peut procéder par coupes et l'on est presque toujours forcé d'employer l'écrasement, moyen défectueux. J'ai pu voir toutefois la formation de la zygospore au début, constater la présence des noyaux, la transformation du protoplasma en huile, et l'existence constante des deux sphères embryonnaires, sans que j'aie pu suivre d'ailleurs toutes les phases de leur développement (fig. 62). Le seul détail remarquable à signaler dans la zygospore mûre est la fréquence à son intérieur de ces formations que j'ai déjà décrites chez *Sporodinia grandis* et *Mucor mucedo*, et qui consistent en des manchons allongés de cellulose, rattachés à la paroi, et plongeant vers le centre de la zygospore. Ils circonscrivent en leur centre un petit cylindre de protoplasma. Il m'a semblé que ces productions étaient généralement multiples dans presque toutes les zygospores de *Mucor rubescens*. J'en ai compté jusqu'à cinq dans certaines zygospores.

Cette espèce peut également, quand on la cultive sur des milieux très liquides, donner un thalle segmenté (fig. 63), mais cette forme est très exceptionnelle, et cette fragmentation du thalle n'est que partielle.

Mucor rigidus sp. nov. — J'ai trouvé au mois de février dernier un *mucor* à filaments sporangifères simples, droits et solides, qui poussait sur des oreilles de Judas placées au fond d'un cristalliseur. Je l'ai nommé *Mucor rigidus*.

Ces oreilles de Judas ont constitué pour moi le jardin le plus fertile en *Mucorinées* que j'aie jamais rencontré. Je les avais placées dans deux cristalliseurs différents, et au bout de trois semaines j'y vis pousser 3 ou 4 espèces de *Mucor*, dont *Mucor rigidus*, en même temps que *Sporodinia grandis*, plusieurs *Pilobolus*, quelques *Mortierella*, ainsi que des *Syncephalis* et des *Piptocephalis*.

Ayant pris l'habitude, dès que je rencontrais une espèce quelconque, d'en faire des semis sur des milieux variés, j'ai procédé de la sorte pour *Mucor rigidus* ; j'en ai ainsi obtenu, de plusieurs manières différentes, de véritables forêts, ce qui prouve que c'est une espèce probablement commune et dont les spores germent avec la plus extrême facilité. J'ai eu des cultures absolument pures de cette espèce en semant des sporanges mûrs sur une couche de bouillie stérilisée, arrosée avec du jus d'orange également stérilisé. Les résultats se sont toujours maintenus les mêmes. Le thalle est ramifié comme celui de *Mucor mucedo*, et les filaments sporangifères auxquels il donne naissance sont toujours simples, rigides, et atteignent une hauteur de 6 centimètres qu'ils ne dépassent jamais, dans quelques conditions qu'on cultive la plante. Ces filaments lorsqu'ils sont jeunes sont terminés par un renflement jaune ; mais plus tard, le sporange brunit, sa membrane s'incruste de cristaux d'oxalate de chaux, et, à maturité, elle se détruit, laissant à nu les spores agglutinées par le protoplasma intersporaire.

Ces caractères, et bien d'autres encore, rapprochent beaucoup cette espèce de *Mucor mucedo* ; les spores sont ovoïdes, et ont à peu près la même taille que dans cette dernière plante ; la columelle a absolument la même forme, et les caractères histologiques sont tout à fait identiques dans les deux espèces. La principale différence réside en somme dans la taille qui est notablement plus petite chez *Mucor rigidus*.

Un fait intéressant à constater, c'est l'uniformité absolue dans l'aspect et les dimensions des sporanges ; dans chaque culture (fig. 64), tous les tubes sporangifères atteignent exactement la même hauteur, cinq centimètres, par exemple, et les sporanges qui peuvent avoir jusqu'à 0^{mm}6 de diamètre, ont à peu près tous la même dimension.

Je n'ai jamais pu obtenir les zygospores de cette plante ; je n'y ai jamais vu de chlamydospores.

J'ai pensé tout d'abord que cette *Mucorinée* était peut-être une variété de *Mucor plasmaticus* Van Tieg, espèce très voisine de *Mucor mucedo* dont elle diffère par sa taille plus petite (7 à 8 centimètres) et par la présence de granulations dans le protoplasma intersporaire. Mais *Mucor rigidus* est encore plus petit que *Mucor plasmaticus*, puisque ses filaments sporangifères ne dépassent jamais 6 centimètres de longueur, et de plus son protoplasma intersporaire est absolument hyalin, comme celui des *Mucor mucedo*, et ne contient pas trace de granulations. En somme, c'est une espèce qui me paraît nouvelle, mais qu'on doit considérer comme voisine de *Mucor mucedo*.

J'ai pu en faire facilement l'étude histologique, puisque j'en avais une foule d'échantillons de tous les âges, et qu'elle ne présente à examiner que son thalle et son système sporangifère. Mais les résultats de mes observations ne faisant que confirmer d'une façon rigoureuse ce que j'ai déjà dit de *Mucor mucedo*, je pense qu'il est inutile de reproduire ici une description qui ne serait, inévitablement, qu'une suite de redites fastidieuses.

RHIZOPUS

Rhizopus nigricans, Ehrenberg.

Rhizopus nigricans est encore une des moisissures les plus communes, et cependant cette plante a été l'objet de nombreuses discussions. Décrite en 1791 par Tode (1) qui la nomma *Ascophora mucedo*, elle fut de nouveau étudiée en 1818 par Ehrenberg (2) qui l'appela *Mucor stolonifer* ; ce même auteur en 1820 (3) en fit le *Rhizopus nigricans*, créant ainsi un genre nouveau aujourd'hui définitivement admis, non sans peine d'ailleurs, car jusqu'au moment où parurent les beaux travaux de Van Tieghem et de Brefeld sur les *Mucorinées*, ses caractères distinctifs furent souvent discutés. C'est ainsi que Fries (4) conteste l'authenticité de ce genre, et que de Bary et Woronine (5), tout en signalant deux caractères très particuliers au *Rhizopus*, l'insertion de la columelle au-dessus du point où le renflement sporangial s'attache au filament, ainsi que les crêtes méridiennes qui hérissent la surface des spores, rejettent également le genre *Rhizopus*, et continuent à appeler la plante *Mucor stolonifer*. M. Van Tieghem (6) a montré en 1875 combien *Rhizopus* est différent de *Mucor*, en créant des espèces nouvelles ayant les mêmes caractères génériques que *Rhizopus nigricans*, caractères nettement déterminés dans chaque espèce. M. Van Tieghem, après de Bary et Woronine, a étudié la formation des zygosporos de *Rhizopus nigricans*, et a fait quelques observations nouvelles.

J'ai cultivé en grand cette plante que j'ai rencontrée

(1) Tode, *Fungi Meckleburgense selectæ*, fasc. II, 1791.

(2) Ehrenberg, *Sylvæ Mycologicæ*, 1818.

(3) Ehrenberg, *de Mycetogenesi* (Nova Acta, x, p. 198, 1820).

(4) Fries, *Systema Mycologicum*, III, 1829.

(5) De Bary et Woronine, *Beiträge*, 2^e série, p. 25.

(6) Van Tieghem, *Nouvelles recherches sur les Mucorinées* (loc. cit.).

pour la première fois sur des rameaux de *Juniperus communis* sur lequel vivait en parasite un *Gymnosporangium*. Les pédicelles des téléutospores de cette plante avaient, en se gélifiant, formé un milieu de culture probablement très favorable au développement de la *Mucorinée*. Et cependant les stolons incolores, sur lesquels se développent d'ordinaire les tubes sporangifères, n'existaient pas, et ceux-ci, très nombreux, poussaient directement sur le substratum. J'obtins, par des semis sur bouillie stérilisée, de pleins cristallisoirs de cette plante, et je pus me mettre facilement dans les conditions indiquées par de Bary et Woronine (1) pour obtenir des zygospores. M. Van Tieghem avait réussi par ce procédé, qui consiste à priver la plante d'air pendant sa végétation, à s'en procurer à coup sûr des milliers. Je ne sais pour quel motif j'ai été moins heureux : la saison où je les cherchais (juin-juillet 1894) était défavorable à leur développement, et je ne les ai rencontrées qu'en petite quantité dans mes cultures. J'en ai eu toutefois suffisamment pour les étudier à tous les stades désirables.

On voit dans beaucoup de cultures, comme l'a très bien remarqué M. Van Tieghem (2), que les tubes fructifères ne sont pas toujours en petits groupes divergents et munis de crampons à leur base (fig. 65). Il arrive fréquemment que des filaments issus du mycelium montent à plusieurs centimètres en l'air et se divisent (fig. 66) en plusieurs branches sporangifères ; dans ce cas, le filament, dans ses deux tiers inférieurs, est généralement vide de protoplasma, et ne montre que des cloisons irrégulièrement espacées : sa membrane, sur toute cette étendue, reste fine, simple et absolument transparente. Vers la base du tiers supérieur, le protoplasma fait son apparition et se montre d'autant plus dense, qu'on se rapproche davantage des sporanges.

(1) *Loc. cit.*

(2) *Loc. cit.*

La transformation de la membrane des tubes suit une marche analogue ; elle s'épaissit progressivement jusqu'au faisceau divergent, et prend peu à peu sa teinte ardoisée caractéristique.

Quelquefois (fig. 67) enfin, les filaments sporangifères sont alternes sur un axe émettant un nombre indéfini de branches latérales, dont les unes s'allongent et supportent des sporanges, tandis que les autres restent courtes et avortent.

M. de Wèvre (1) ayant cherché à étudier les noyaux de *Rhizopus nigricans*, s'exprime ainsi : « Ce champignon est très difficile à étudier à cause de la coloration ardoisée de ses tubes fructifères. Cette coloration masque les noyaux ; aussi n'ai-je rien pu trouver dans la tige.

« En m'adressant aux stolons incolores, j'ai rencontré de petites masses ovales arrondies colorées en bleu, plongées dans le protoplasma, qui ne peuvent être prises que pour des noyaux.

« Dans un filament fourchu, j'ai constaté à l'embranchement la présence de trois noyaux allongés, bien bleus ; puis, dans l'un des filaments, trois autres qui se suivaient en ligne droite.

« Les spores traitées par l'hématoxyline de Böhmer m'ont montré un petit corps ovale violacé, qui semble bien être un noyau. On dirait parfois en voir plusieurs. »

Les figures qui accompagnent cet exposé un peu vague ne nous renseignent pas davantage. En réalité, comme nous allons le voir, *Rhizopus nigricans* a une structure très analogue à celle des autres *Mucorinées*, et il n'est même pas très difficile de la mettre en évidence. Mais il faut avant tout, pour bien comprendre cette structure, et pour y voir clair, se procurer des échantillons jeunes. Les tubes fructifères sont, dans la plante, la partie la plus intéressante à étudier, et avant la formation com-

(1) De Wèvre, *Le noyau des Mucorinées* (Bulletin de la société royale de botanique de Belgique, t. XXX (1891), première partie).

plète des spores, ils sont incolores et se laissent très bien pénétrer par n'importe quel réactif. Je me suis particulièrement bien trouvé du picro-carmin de Weigert et surtout de l'hématoxyline de Böhmer additionnée de quelques gouttes d'acide acétique. Au moyen de ces réactifs on constate d'abord, dans le thalle et les stolons incolores, la présence du protoplasma plus ou moins dense, contenant une quantité variable de noyaux. On comprend aisément qu'ils ne soient pas uniformément répartis dans les stolons, puisqu'il arrive souvent que le protoplasma abandonne toute une partie des tubes, en laissant des cloisons de place en place. Mais, là où le protoplasma existe, il a, ainsi que les noyaux, la même apparence que dans toutes les autres espèces.

En général, lorsque les tubes sporangifères sont formés, la presque totalité du protoplasma et des noyaux des filaments qui les supportent s'y engagent, et l'on trouve souvent ceux-ci complètement vides, sauf dans la partie située au delà des petits faisceaux fructifères, sur laquelle d'autres branches sporangiales doivent prendre naissance. En un mot, un filament, sur le parcours duquel se développe un certain nombre de groupes de fructifications, abandonne dans chacun de ceux-ci une partie de son protoplasma et de ses noyaux, de façon qu'entre le dernier faisceau sporangifère, formé à sept centimètres, par exemple, au-dessus du substratum, et le thalle, on ne trouve presque plus rien à l'intérieur du filament; à peine çà et là un noyau ou deux; c'est peut-être ce qu'a vu M. de Wèvre.

Quant aux tubes sporangifères, depuis les crampons de leur base jusque dans leur renflement sporangial, ils sont absolument pleins de protoplasma et de noyaux. Ceux-ci se répartissent jusque dans les plus fines divisions des radicelles de la base (fig. 68). Sur tout le trajet du tube, on les rencontre à première vue au microscope, sans la moindre difficulté. Plus on se rapproche du jeune sporange, plus ils sont nombreux et serrés. Comme chez

Mucor mucedo, la membrane du sporange se recouvre de bonne heure de granules d'oxalate de chaux ; elle n'est donc pas transparente, et il faut faire éclater le sporange (fig. 69) pour en examiner le contenu. On peut constater de cette façon que le protoplasma sporangial est très dense, et que les noyaux sont si nombreux, que sur bien des points ils sont au contact les uns des autres.

La division du protoplasma sporangial en columellaire et sporigène se fait comme dans les autres espèces, et chacun des deux protoplasmes ainsi constitués présente les caractères déjà cités, le columellaire très peu dense, contenant des noyaux sphériques, le sporigène, qui, par compression, paraît composé de zones concentriques extrêmement serrées, pourvu d'un grand nombre de noyaux ovoïdes.

Le protoplasma sporigène, avant de se scinder en sporaire et en intersporaire, s'organise ici d'une façon toute spéciale (fig. 70). On le voit, à travers une membrane déchirée de sporange, fragmenté en petites portions polyédriques, toutes accolées les unes aux autres, renfermant chacune de 2 à 6 noyaux, rarement un seul, le plus souvent 3 ou 4. Toutes ces petites masses semblent être très comprimées, et sont très inégales de forme et de taille. Certaines de leurs faces sont triangulaires, d'autres quadrilatérales, un certain nombre pentagonales, les autres enfin hexagonales ; leurs dimensions varient dans la proportion du simple au triple.

Peu à peu, chacun de ces polyèdres augmente de volume, et la masse entière croissant de la sorte fait dilater la membrane du sporange. C'est à ce moment qu'apparaît le protoplasma intersporaire, avec ses caractères propres, entourant chaque polyèdre sporigène (fig. 71). Le stade qui précède immédiatement l'apparition du protoplasma intersporaire semble tout à fait particulier au *Rhizopus nigricans*, et cette *mucorinée* est la seule où je l'ai rencontré. Les polyèdres ainsi isolés les uns des autres ont toujours l'apparence anguleuse et irrégulière, et le nombre

de leurs noyaux n'augmente pas. La columelle contient encore du protoplasma et beaucoup de noyaux ; mais ce protoplasma est peu abondant et se transforme, en presque totalité, en une matière un peu liquide, dans laquelle roulent les noyaux, quand on lui donne issue en écrasant la columelle : il finit par se résorber complètement, et avant même la disparition de la membrane sporangiale (fig. 72), il ne reste absolument plus dans la columelle que les noyaux fixés à la paroi.

Le protoplasma des spores est trabéculaire et contient de l'huile ; les noyaux (2-6) y sont toujours parfaitement visibles : la forme polyédrique persiste longtemps. On la retrouve même, atténuée, à l'état définitif. Peu à peu l'exospore se couvre de crêtes méridiennes (fig. 73), qui rendent difficile l'examen de la spore ; cependant on peut encore constater chez celle-ci la présence des noyaux, en la traitant pendant quelque temps par une solution très étendue de potasse, avant de la soumettre aux réactifs colorants.

La teinte bleue des filaments sporangifères mûrs de *Rhizopus nigricans*, ne constitue pas un obstacle sérieux pour l'examen de ces organes. Ils n'en sont pas moins transparents, et on y trouve assez facilement, avec un bon éclairage, les noyaux fichés dans la paroi comme à l'intérieur de la columelle (fig. 74). Quant aux membranes des filaments fructifères, à maturité, elles sont au nombre de 3 : une externe, très mince ; une interne, également très délicate, et enfin une médiane qui s'épaissit considérablement, permettant aux tubes de se tenir rigides, et qui est seule colorée en bleu ardoisé intense. La membrane des stolons reste incolore et simple.

Tout ce que nous venons de dire s'applique exactement aux cas où les fructifications sont portées directement sur des filaments incolores modifiés à leur extrémité (fig. 65 et 66).

Mais ici, il y a une transformation progressive du filament incolore en tube sporangifère, tandis que lorsque

les systèmes sporangifères sont munis de crampons, la transition n'existe pas.

La zygospore de *Rhizopus nigricans* provient de la conjugaison de deux rameaux renflés inégalement : son développement a été très bien étudié par de Bary et M. Van Tieghem.

Ce dernier auteur considère la différence de grosseur qui existe entre les gamètes comme un indice de sexualité, « la plus petite cellule devant être considérée comme mâle, l'autre comme femelle (1). » L'examen anatomique ne vient pas à l'appui de cette manière de voir. L'inégalité des gamètes n'entraîne aucune différence dans leur constitution : seulement l'un contient moins de protoplasma et de noyaux que l'autre.

Quant à la zygospore qui résulte de leur fusion, elle ne possède aucun caractère interne qui la distingue de celles qui sont le résultat d'une isogamie absolue.

La distribution du protoplasma et des noyaux est exactement la même que chez *Sporodinia grandis*, par exemple, et, fait important, les sphères embryonnaires, au nombre de deux, ont sensiblement le même diamètre. D'ailleurs, ce que M. Van Tieghem a fait remarquer pour les suspenseurs, à savoir que « ces différences présentent tous les degrés, et parfois même elles ne s'accusent pas, les deux rameaux acquérant la même forme renflée, etc. (2) », peut s'appliquer aux gamètes, qui sont à peu près égaux dans un certain nombre de cas.

Nous allons d'ailleurs trouver les mêmes caractères dans d'autres espèces.

(1) Van Tieghem, *Nouvelles recherches*, p. 81.

(2) Van Tieghem, *loc. cit.*

CHÆTOCLADIUM

Chaetocladium Jonesii Fres. *Chaetocladium Brefeldii*
V. Tieghem.

Deux espèces principales seulement ont été décrites d'une façon complète dans le genre *Chaetocladium* : ce sont *Chaetocladium Jonesii* et *C. Brefeldii* que j'ai trouvés tous les deux plusieurs fois. La dernière espèce doit son nom à MM. Van Tieghem et le Monnier(1) ; Brefeld (2) en avait fait une remarquable monographie sous le nom de *Chaetocladium Jonesii* : il m'a semblé qu'elle était plus commune que l'autre. Le genre *Chaetocladium* possède des caractères distinctifs très nets, sa végétation en liane, et ses tubus fructifères terminés par des sporangioles monospermes : on a pendant longtemps considéré cette plante comme une variété de *Mucor mucedo*, et cette opinion a été admise jusqu'en 1872, époque à laquelle MM. Van Tieghem et le Monnier d'une part, Brefeld de l'autre, ont montré son autonomie et son indépendance absolue par rapport à *Mucor mucedo*. Brefeld considérait toutefois *Chaetocladium* comme un parasite nécessaire de *Mucor mucedo* et de *Rhizopus nigricans* : MM. Van Tieghem et le Monnier démontrèrent que ce parasitisme n'est qu'apparent, et qu'on peut très bien cultiver cette plante loin de toute autre *Mucorinée*. Les cultures cellulaires fournissent à ce point de vue un argument sans réplique. Le parasitisme de *Chaetocladium* est seulement facultatif, comme le dit M. Van Tieghem ; on pourrait même dire qu'il n'est que provisoire, car les anastomoses entre *Chaetocladium* et la plante hôte ne durent pas longtemps, les crampons par lesquels s'effectue la commu-

(1) Van Tieghem et le Monnier, *Recherches sur les Mucorinées* (loc. cit.).

(2) Brefeld. *Untersuchungen über Schimmelpilze*, 1872.

nication, étant rapidement obstrués par des cloisons, qui ne permettent plus le passage des substances provenant de *Mucor mucedo*.

Cette dernière plante est la seule en compagnie de laquelle j'aie trouvé *Chaetocladium* : Brefeld l'a observé avec *Rhizopus nigricans* et je pense que cette association offre à *Chaetocladium* des avantages surtout mécaniques. La végétation grimpante de cette plante exige que ses filaments délicats rencontrent des points d'appui solides qui lui permettent de s'élever, sans fléchir, et de se maintenir à une certaine hauteur.

Ce genre présente, dans la formation des sporanges monospermes, un intérêt nouveau pour nous.

Chaetocladium Jonesii Fres. — Cette espèce ne se distingue de *Chaetocladium Brefeldii* que par ses dimensions plus grandes. Cette différence, qui paraît secondaire au premier abord, est absolument juste : ces deux plantes peuvent se trouver indépendantes l'une de l'autre, dans les mêmes cultures, et elles ont quelques caractères histologiques différents. Les spores de l'une peuvent avoir de 7 à 10 μ de diamètre, les spores de *Ch. Brefeldii* n'ont guère que 5 μ de diamètre au maximum.

Le mycelium de *Chaetocladium Jonesii*, issu d'une spore, est étalé et non ramifié comme celui de beaucoup d'autres *Mucorinées* (fig. 75). Il en résulte que le protoplasma non comprimé dans un cylindre paraît un peu plus lâche, et que les noyaux sont moins rapprochés les uns des autres que dans un thalle comme celui de *Mucor mucedo*. Par contre, les filaments aériens qui naissent sur ce mycelium, et qui rampent à la surface d'un tube de *Mucor*, étant très grêles, sont bourrés de protoplasma et de noyaux (fig. 76). On trouve des noyaux jusque dans les crampons qui pénètrent dans la paroi des filaments de *Mucor*. Les auteurs disent que les plantes s'anastomosent, que les membranes se résorbent au contact, et qu'il y a pénétration à l'intérieur du *Chaetocladium* des liquides contenus dans *Mucor mucedo*. Cette observation tendrait

à prouver l'existence d'un parasitisme réel, sinon nécessaire. Mais l'anastomose n'est le plus souvent que passagère : les crampons se cicatrisent rapidement et s'oblitérent, et il n'existe plus trace de communication entre *Mucor* et *Chaetocladium*. Dans un certain nombre de cas, l'anastomose n'a jamais lieu, car il n'y a aucune résorption de membranes. Les crampons ne jouent plus alors qu'un rôle purement mécanique, et ne servent qu'à fixer la plante en certains points de l'espace. Quant aux groupes de tubercules qu'on rencontre çà et là le long des filaments, leur présence au niveau des crampons n'est pas une preuve absolue que la substance qu'ils contiennent provient de tubes de *Mucor*. On les trouve en effet en d'autres points des filaments, sans qu'il y ait le moindre rapport avec la plante voisine. Ce sont bien des réservoirs nutritifs renfermant du protoplasma assez liquide et des noyaux, mais je crois qu'on peut les considérer presque toujours comme entièrement formés par la plante qui les possède. Les filaments de *Mucor* ou de *Rhizopus* ne seraient plus, dans ce cas, pour *Chaetocladium*, que des manières de tuteurs autour desquels grimperait celui-ci en s'y attachant çà et là.

Les groupes fructifères sont formés par des branches dont les extrémités dichotomes se renflent légèrement ; ces organes se remplissent de protoplasma et de noyaux ; sur chacune de ces petites massues terminales, naît un groupe de sporanges (fig. 77), dont le développement est très simple : on voit pousser sur chaque renflement autant de bourgeons qu'il doit se fermer de sporangioles. Ces bourgeons s'allongent en tubes assez courts, et, presque immédiatement, se renflent à leur tour en une tête sphérique dans laquelle pénètrent du protoplasma et quelques noyaux (3-7). Tout se passe donc, en somme, comme dans le cas des sporanges polyspermes des autres *Mucorinées* : mais le protoplasma, n'ayant à former qu'une seule spore, ne subit aucune division ; et se transforme peu à peu en huile, jusqu'à la maturité de la spore. La

membrane du sporange est hérissée de granules, et se trouve souvent entraînée avec le pédicelle au moment de la dissémination. Cette membrane est donc une véritable périspore, qui, dans bien des cas, protège la spore jusqu'à sa germination. Les spores mûres, malgré leur teinte bleue, montrent assez facilement de 3 à 7 noyaux, nombre que Schmitz (1) a constaté et qu'il indique, en passant, dans son travail sur le noyau de *Thallophytes*. Les pointes qui terminent les branches fructifères ne me paraissent contenir ni protoplasma ni noyaux.

Je n'ai jamais pu me procurer les zygosporos de *Chætocladium Jonesii*.

Chætocladium Brefeldii. V. Tieghem. — Cette plante très voisine de la précédente dont elle se distingue surtout par l'infériorité de ses dimensions, possède les mêmes caractères histologiques; mais ses sporangioles sont parfois groupés autrement que chez *Chætocladium Jonesii* (fig. 79) et sont portés en nombre considérable sur de petites branches secondaires de l'axe. Leur diamètre est de 3 à 5 μ et ils renferment de 3 à 5 noyaux au maximum, tandis que chez *Chætocladium Jonesii* on en trouve jusqu'à 7. Je ne dirai rien du mode de développement de ces petits sporanges qui est identique à celui des sporanges de l'espèce précédente.

J'ai pu me procurer une certaine quantité de zygosporos de *Chætocladium Brefeldii*. Elles ont été décrites avec un grand luxe de détails et de dessins par Brefeld (2); les dessins de M. Bainier (3), qui a également obtenu les zygosporos de cette plante, se rapprochent beaucoup de ceux de Brefeld. Les observations de ces deux auteurs paraissent très exactes. Il y a souvent inégalité entre les ampoules qui forment la zygospore (fig. 80); mais cette

(1) Schmitz, *Untersuchungen über die Zellkerne der Thallophyten* (loc. cit.).

(2) Brefeld, loc. cit.

(3) Bainier, *Nouvelles observations sur les zygosporos des Mucorinées* Ann. des sc. natur. 1884).

inégalité, comme chez *Rhizopus nigricans*, n'entraîne pas la moindre conséquence histologique. D'ailleurs, la zygospore est parfaitement régulière, et, au début, se rapproche beaucoup de celle de *Sporodinia grandis*; elle a la forme d'un tonnelet. Plus tard, elle se renfle énormément et devient à peu près sphérique. Mais j'ai rencontré un certain nombre d'échantillons, où la zygospore avait conservé à peu près sa forme primitive (fig. 81).

Quelle que soit sa forme, son organisation ne varie pas, et on y rencontre, à maturité, deux *sphères embryonnaires* d'égale grosseur, et dont le diamètre mesure environ 30 μ .

Les suspenseurs de la zygospore sont quelquefois égaux, souvent inégaux, et, dans ce dernier cas, il n'est pas rare de voir le plus petit gamète fournir le suspenseur le plus renflé, comme chez *Rhizopus nigricans*.

Ces variations morphologiques montrent combien le rôle des ampoules dépend peu de leur taille et de leur forme; l'examen histologique prouve que la zygospore elle-même est absolument indifférente à ces variations. Nous venons de voir deux espèces où l'inégalité des ampoules sexuelles est très marquée, et, dans ces deux cas, l'œuf est constitué exactement comme s'il y avait eu isogamie.

THAMNIDIUM

Thamnidium elegans, Link.

Thamnidium elegans est une *Mucorinée* dont on a souvent parlé depuis la première description que Link (1) en a donnée, en 1816.

Les recherches successives de Fries (2), de Corda (3),

(1) Link, *Observ. in ord. nat. plant. dissert.* I, 1816.

(2) Fries, *Systema*, I, p. 183.

(3) Corda, *Icon. fungorum*, III, 1840, p. 44.

de De Bary et Woronine (1) avaient répandu l'opinion que cette plante était une forme particulière de *Mucor mucedo*, et c'est encore à MM. Van Tieghem et le Monnier (2) qu'on doit d'avoir montré son autonomie d'une façon indiscutable. Je n'ai jamais obtenu les zygospores que M. Bainier (3) a décrites, bien que j'aie rencontré plusieurs fois cette espèce.

M. Vuillemin (4) a étudié *Thamnidium elegans*, et a montré quelques variations intéressantes qu'il peut subir quand on le cultive sur des milieux différents. On sait que les caractères de cette plante peuvent varier dans une certaine limite, et je ne crois pas que deux cultures différentes m'aient jamais fourni des échantillons absolument semblables.

M. De Wèvre (5) a fait quelques recherches sur *Thamnidium elegans*, et il pense être « arrivé à des résultats suffisamment certains ». Cet observateur a vu : plusieurs noyaux ovales ou fusiformes placés contre la paroi dans le même tube ; dans le sporange jeune, ne contenant pas encore de spores, deux petits corps bleus qu'il considère comme des noyaux ; enfin dans les spores mêmes, il lui est arrivé de voir un petit corps de la forme et de la grosseur de ceux vus dans le sporange.

En réalité, l'espèce qui nous occupe est encore une de celles où l'examen histologique est le plus facile et le plus intéressant. La plante est, comme on le sait, hétérosporangée (fig. 82), et l'on peut y suivre pas à pas le développement des grands sporanges à columelle, et des petits sporanges sans columelle ne contenant le plus souvent que quatre spores, réduits même parfois à une seule.

(1) De Bary et Woronine, *Beitrag zur morphologie und physiologie der Pilze* (1866), p. 16.

(2) Van Tieghem et Le Monnier, *loc. cit.*

(3) Bainier, *Nouvelles observations sur les zygospores des Mucorinées*, *loc. cit.*

(4) Vuillemin, *Etudes biologiques sur les champignons*.

(5) De Wèvre, *le noyau des Mucorinées*, *loc. cit.*

Le mycelium de *Thamnidium elegans* se présente (fig. 83) sous une forme d'abord étalée, un peu comme celui de *Chætocladium Jonesii*, et il donne naissance à de grosses branches qui se ramifient en tubes beaucoup plus étroits. Il résulte de cette disposition que le protoplasma est plus ou moins lâche et que les noyaux, nombreux, sont assez écartés les uns des autres.

L'appareil de fructification, avec ses deux systèmes de sporanges, est très intéressant à étudier ; de plus, il est facile de suivre en même temps la croissance des uns et des autres, car ils arrivent à peu près ensemble à maturité.

Les grands sporanges se développent à peu près comme ceux de *Mucor mucedo*. Formés à l'extrémité renflée de gros filaments, ils sont, comme ceux-ci, pleins de protoplasma très riche en noyaux, qui sont sphériques et non ovales ou fusiformes. Les phases de la division du protoplasma en sporigène et en columellaire se montrent avec la plus grande netteté : les polyèdres sporaires contiennent de 6 à 10 noyaux, et les spores en renferment le même nombre.

Les petits sporanges sont portés par les extrémités de filaments latéraux plus ou moins dichotomisés. La dichotomie varie beaucoup de complexité, suivant les cas, et un petit rameau latéral peut ne supporter que huit sporangioles ; quelquefois on peut en compter jusqu'à trente-deux sur la même branche (fig. 84). M. Bainier (1) a dessiné un groupe de jeunes sporanges où ces organes sont en quantité beaucoup plus considérable encore ; j'ai rencontré plusieurs fois une disposition analogue. La fig. 84 montre une branche sporangiolifère à la même phase de développement que celle représentée par M. Bainier. C'est un état très jeune que je n'ai trouvé que rarement : cela se comprend par la rapidité de la croissance, qui fait que ce stade est franchi en quelques instants. On voit le

(1) Bainier, *loc. cit.*, pl. X, fig. 2.

protoplasma et les noyaux, ceux-ci se divisant par le mode direct sur bien des points, pénétrer dans les plus fines ramifications et arriver dans les petites têtes à l'extrémité des derniers rameaux ; on en voit déjà un et parfois deux dans chaque tête. Les noyaux, dans ces étroits passages, se trouvent comprimés, et paraissent diminuer de volume ou s'allonger. Mais bientôt, les renflements s'accroissant, protoplasma et noyaux arrivent en plus grande abondance, et quand le protoplasma forme les polyèdres sporaires, chacun de ceux-ci contient huit ou dix noyaux qui se colorent admirablement par l'hématoxyline de Böhmer à l'acide acétique. Ils sont sphériques, et leur nucléole, entouré d'une zone claire, ressort avec une netteté parfaite. Les spores jeunes en renferment autant, présentant le même aspect. Plus tard, lorsque l'exospore s'épaissit, le protoplasma devient pariétal (fig. 85), et les noyaux, moins faciles à découvrir, occupent la périphérie. Les spores des petits sporanges sont ovales, comme celles des grands, et présentent les mêmes dimensions, de huit à dix μ dans leur plus grand diamètre.

Dans le cas où les sporangioles sont monospermes (fig. 86), les choses se passent comme chez *Chætocladium* : les petits renflements peuvent montrer jusqu'à 15 noyaux, et la membrane du sporange, incrustée de granules d'oxalate de chaux (fig. 87), joue le rôle d'une périspore et se fragmente pour livrer passage à la spore. Celle-ci, dans ces conditions, est sphérique, et son diamètre varie entre 10 et 15 μ . A maturité (fig. 88), les noyaux disposés à la périphérie sont encore visibles, quand on prolonge l'action des réactifs, et les mailles du protoplasma contiennent de l'huile accumulée surtout vers le centre de la spore.

PILOBOLÉES

La tribu des *Pilobolées* comprend 2 genres, *Pilobolus* et *Pilaira*, qui se distinguent des autres *Mucorinées* surtout par la forme de leur appareil fructifère et le mode de dissémination des spores. Les caractères de cette tribu sont trop connus pour que je les rappelle ici : j'ai étudié plusieurs espèces de *Pilobolus* et une de *Pilaira*. Je choisirai, pour les décrire, deux des plus communs parmi les *Pilobolus*, afin que mes observations puissent être facilement contrôlées par ceux qui s'intéresseraient à ce genre de recherches. J'exposerai donc les principaux caractères histologiques des 3 plantes suivantes :

<i>Pilobolus</i>	{	<i>Œdipus</i>
		<i>Kleinii</i>
<i>Pilaira</i>		<i>Cæsatii</i>

PILOBOLUS

Pilobolus ædipus, Montagne. — *Pilobolus Kleinii*, Van Tieghem.

Le genre *Pilobolus* a donné lieu à un nombre considérable d'observations. C'est Tode qui l'a nommé en 1784 ; mais il avait déjà été vu par Baker en 1744. Les travaux de Cohn (1), de Coemans (2) et de Klein (3) ont fait

(1) Cohn, *Entwicklungsgeschichte des Pilobolus crystallinus* (Nova acta, t. XIII, p. 493, 1854).

(2) Coemans, *Monographie du genre Pilobolus* (Mémoires de l'Acad. royale de Belgique, t. XXX, 1861).

(3) Klein, *Zur Kenntniss des Pilobolus*, *Jahrbücher für wiss. Botanik*, t. VIII, 1872.

connaître d'une façon assez exacte la forme et le développement de quelques espèces, mais c'est encore à M. Van Tieghem (1), qui a enrichi la science de plusieurs espèces nettement caractérisées, que nous sommes redevables des notions exactes que nous avons sur ce groupe.

Au point de vue histologique, *Pilobolus* est la seule *Mucorinée* sur laquelle nous possédions quelques renseignements sérieux : M. Vuillemin (2), en effet, en 1887, a étudié une espèce, *Pilobolus ædipus*, et a fait connaître quelques détails importants de sa constitution. Plus récemment, en 1891, M. de Wèvre (3) a essayé de reprendre cette étude, mais ses efforts sont restés infructueux.

Depuis deux ans que je cultive des *Mucorinées*, j'ai trouvé bien des représentants du genre *Pilobolus*, et la plupart des espèces connues me sont passées entre les mains, *Pilobolus ædipus*, *P. crystallinus*, *P. Kleinii*, *P. nanus*, etc... ; j'ai pensé toutefois qu'il valait mieux limiter ma description aux seuls *Pilobolus ædipus* et *P. Kleinii*, qui m'ont paru réunir tous les caractères du groupe.

Pilobolus ædipus, Montagne. — Cette espèce est la première que j'ai rencontrée, et j'ai été d'autant plus heureux de la posséder et de la pouvoir étudier, que je connaissais le travail de M. Vuillemin, et le résultat de ses observations. Cet auteur n'a pas eu l'intention de donner une monographie histologique de l'espèce ; il s'est contenté de signaler en passant quelques points intéressants de son organisation.

Je n'ai point à décrire ici les caractères morphologiques de *Pilobolus ædipus* ; ils sont trop connus pour que j'y revienne.

Je me contenterai de rappeler que ses spores germent avec une grande facilité, propriété qu'on peut mettre à

(1) Van Tieghem, *Nouvelles recherches sur les Mucorinées*, (Ann. Sc. nat. 1875.)

Troisième mémoire sur les Mucorinées, ibid. 1876.

(2) Vuillemin, *Etudes biologiques sur les champignons*, Nancy, 1887.

(3) De Wèvre. *Le noyau des Mucorinées*, loc. cit.

profit pour les recherches anatomiques. Il n'est pas rare de voir, dans les sporanges projetés sur les parois humides d'un cristalliseur, un certain nombre de spores germer rapidement, et l'on peut alors, sans difficulté, étudier le développement de toutes les parties de la plante. La figure 89 représente un pied complet de *Pilobolus ædipus*, dessiné d'après un exemplaire qui poussait dans ces conditions ; j'en possédais ainsi une vingtaine presque simultanément, de telle sorte que la paroi cylindrique du cristalliseur où je les cultivais était sillonnée, sur toute sa surface, par des ramifications du thalle, sur lesquels naissaient çà et là des renflements sporangifères.

J'eus l'idée qu'on pouvait utiliser cette faculté germinative spéciale pour examiner au microscope, à de forts grossissements, et dans des conditions avantageuses, des échantillons entiers. J'employai pour cela le dispositif suivant qui rappelle les cellules de Van Tieghem, mais qui est un peu plus simple.

On applique au centre d'une lamelle mince un sporange de *Pilobolus ædipus* nouvellement projeté. On en prépare ainsi un certain nombre, une douzaine par exemple, que l'on dispose, au moyen de petits supports quelconques, au-dessus du fond d'un cristalliseur contenant un peu d'eau. La face de la lamelle sur laquelle est collé le sporange doit être tournée du côté du liquide. On ferme la partie supérieure du cristalliseur, et, au bout d'un temps variant de 3 à 10 jours, quelques spores commencent à germer, et donnent des pieds de *Pilobolus*. Ce procédé offre l'avantage que les petites plantes se trouvent étalées presque à sec sur une lamelle où elles sont pour ainsi dire fixées : on peut les traiter séance tenante par une goutte d'un colorant énergique, comme la fuchsine aniliné, et les examiner ensuite directement dans la glycérine. Avec quelques précautions, on conserve ainsi à la plante sa forme exacte et tous ses rapports.

Les filaments sporangifères ainsi obtenus diffèrent généralement un peu de ceux qu'on observe dans les

cultures abondantes en matière nutritive, telle que le crottin de cheval. Les sporanges, poussés dans les conditions que j'ai énoncées plus haut, sont supportés par des renflements uniformes, réguliers, séparés du mycélium, élargi en cône, par une cloison. Dans la nature (fig. 90), on trouve presque toujours un étranglement plus ou moins allongé, qui partage l'ampoule sporangifère en un réservoir inférieur directement appliqué sur l'apophyse mycélienne, et en un renflement supérieur piriforme à l'extrémité duquel se trouve le sporange. L'étranglement est, dans la plupart des cas, beaucoup plus allongé que je ne l'ai dessiné, mais sa longueur ne dépasse guère celle du renflement supérieur, ce qui donne à *Pilobolus ædipus* sa forme trapue caractéristique. Cette forme est d'autant plus nette que, presque toujours, la partie inférieure du tube sporangifère est, avec l'apophyse mycélienne, cachée dans le milieu nutritif.

Le mycélium, aussi bien dans un milieu de culture abondant que sur la face humide d'une lamelle, contient un protoplasma riche en noyaux : ce mycélium ne présente aucune différence de structure avec celui des autres *Mucorinées*.

On le voit, de place en place, émettre des renflements (fig. 91) pleins de protoplasma et de noyaux : M. Vuillemin a observé ce stade. C'est surtout vers la partie supérieure que se condensent les noyaux et le protoplasma : à la base, celui-ci, beaucoup moins abondant, est pariétal. L'ampoule ainsi constituée augmente et s'allonge ; elle s'étrangle peu à peu dans son milieu et sa partie supérieure se renfle à son tour à son extrémité pour former le sporange séparé du support par la columelle.

La division du protoplasma en sporigène et en columellaire, de même que la division du protoplasma sporigène en sporaire et en intersporaire se passe comme dans les autres *Mucorinées*. M. Van Tieghem a parfaitement observé les formes de ce phénomène

Le nombre des noyaux contenus dans chaque polyèdre

sporaire peut varier de 3 à 10, il est le plus souvent de 5 ou 6.

En somme, le système sporangifère, après formation des spores par le mode habituel, présente l'aspect dessiné sur la figure 92. On trouve des noyaux disséminés sur toute l'étendue du filament fructifère, depuis l'apophyse mycélienne jusque dans la columelle. Mais ils ne sont pas également répartis sur tout ce parcours. L'ampoule inférieure n'en contient en général qu'un petit nombre, beaucoup plus petits que ceux qui sont placés au voisinage de la columelle. L'étranglement médian en renferme également quelques-uns, et ils deviennent particulièrement nombreux dans le renflement supérieur du support. A la base de la columelle, que la figure représente séparée du sporange après dissection, ils sont tellement abondants qu'ils forment une véritable couronne. Dans la columelle même, on en trouve encore une grande quantité.

M. Vuillemin (1) s'exprime ainsi à propos de la constitution du support : « Contrairement à l'opinion courante, la cloison columellaire n'emprisonne pas tout le protoplasme dans le sporange. Le tube reste tapissé d'une couche pariétale. Celle-ci renferme, dans la portion supérieure, des noyaux mesurant environ $2\ \mu$ 5 de diamètre, séparés par un espace variable (15-20 μ par exemple), mais de plus en plus serrés au voisinage du sporange, où ils sont en voie de prolifération active.

« Sur la face inférieure de la columelle, principalement à la base, les noyaux deviennent aussi rapprochés que dans le sporange lui-même, le protoplasme est renflé à leur niveau, et aminci dans l'intervalle qui les sépare. Parfois il se condense au niveau de ces dépressions, de manière à y constituer des lignes sombres malgré leur faible épaisseur. Ainsi se constitue un réseau de plaques granuleuses que nous avons observé avec la plus parfaite netteté à la face interne de la columelle chez

(1) Vuillemin, *Etudes biologiques sur les Champignons*, p. 47.

Pilobolus Kleinii, Van Tieghem. Les cellules ainsi délimitées mesuraient en diagonale 5-6 μ . Le protoplasme continue donc à tapisser la face végétative de la columelle qu'il a secrétée, et s'y organise de manière à rappeler l'aspect de certains épithéliums reposant sur une membrane amorphe. »

La structure des tubes sporangifères à laquelle M. Vuillemin fait allusion dans ce passage, est très fréquente, et la description est d'une scrupuleuse exactitude; mais M. Vuillemin n'ayant pas étudié toutes les phases du développement, a considéré comme définitif un état purement transitoire : cette apparence du protoplasma rappelant certains épithéliums est en rapport avec sa disparition. Si M. Vuillemin avait examiné des individus un peu plus jeunes, au moment même de la formation des spores, par exemple, il aurait vu que la columelle et le renflement à l'extrémité duquel elle est située, contiennent du protoplasma assez liquide avec de nombreux noyaux. Puis ce protoplasma se résorbant peu à peu, on arrive à la disposition indiquée par M. Vuillemin. Les plaques granuleuses qu'il a observées, loin d'être un indice de l'organisation du protoplasma, sont au contraire un signe de sa disparition : un peu plus tard il ne forme plus qu'un réseau de grains très fins entourant les noyaux, et au stade définitif, il n'en reste plus trace, les noyaux restant fixés dans la paroi de la columelle et du filament. C'est en somme la répétition exacte de ce que nous avons toujours vu jusqu'ici, et de ce que nous verrons partout dans la famille des *Mucorinées*. Ce qu'a décrit M. Vuillemin peut tout aussi bien s'appliquer à *Mucor mucedo* qu'à *Pilobolus ædipus* ou à *P. Kleinii*.

L'auteur, dans le même passage, considère les noyaux, au voisinage du sporange, comme étant en voie de prolifération active. Je n'ai jamais rien vu qui me permit de partager cette opinion. Je crois que, dans toutes les *Mucorinées*, la division des noyaux cesse d'une façon définitive après l'apparition du sporange. Dans toutes les espèces, ils se multiplient rapidement par le mode direct

jusqu'à l'apparition de la columelle : il n'est pas rare de rencontrer une phase de cette division dans les filaments, mais je ne l'ai jamais observée après la formation du sporange. J'ajouterai encore un détail pour en finir avec le filament fructifère : on voit souvent les nucléoles, derniers vestiges du protoplasma et des noyaux, présenter des déformations telles, dans les tubes très âgés, qu'on pourrait hésiter à les reconnaître : ils ont des contours irréguliers, des formes plus ou moins effilées, etc., surtout à la base de la columelle. Il arrive même souvent, et l'on peut s'en rendre compte en déchirant un lambeau de columelle, qu'ils se divisent en 4 parties, rappelant les 4 quartiers d'une pomme (fig. 93). Il faut un grossissement de 1200 à 1300 diamètres pour bien voir cette conformation ; il est possible qu'elle corresponde à une désagrégation des nucléoles.

Quand on examine à un grossissement analogue la partie de la membrane du sporange qui forme une zone circulaire suivant laquelle se fait la déhiscence (fig. 94), on la trouve, sur les sporanges projetés, percée d'un nombre prodigieux de petits orifices extrêmement fins, dont les plus grands ont à peine $0\ \mu, 5$ de diamètre. Cette structure doit répondre à une exigence physiologique, la déhiscence du sporange : elle nous donne même, je pense, la clef du mécanisme selon lequel se fait cette déhiscence, qui a donné lieu à tant de discussions, et nous permet de comprendre la perméabilité de la membrane.

Une autre disposition, qui me paraît tout à fait caractéristique de *Pilobolus oedipus*, consiste dans la situation des spores périphériques dans des logettes qui forment autant de nids tapissant la paroi interne de la membrane cutinisée du sporange. M. Vuillemin compare très exactement l'ensemble de ces logettes à une mosaïque (fig. 95) formée par des membranes polyédriques juxtaposées. Chaque loge, qui peut affecter des formes très différentes, contient une spore, qu'elle laisse échapper après la déhiscence du sporange. Les membranes qui forment cet

ensemble de nids sont absolument amorphes. Il m'a été impossible de voir d'une façon certaine d'où provient cette membrane multiloculaire, et à quel moment du développement elle fait son apparition.

Les spores, dans la plante qui nous occupe, [ont] une constitution très particulière (fig. 96) : quand elles sont jeunes, elles possèdent, ainsi que les polyèdres qui les ont formées, 3-10 noyaux bien nets plongés dans du protoplasma dense et homogène. M. Vuillemin, au moyen de l'acide acétique, n'en avait découvert que 1-4 groupés de préférence vers le centre. L'acide acétique est insuffisant, et l'on obtient de meilleurs résultats en plongeant les spores pendant 48 heures dans l'hématoxyline phéniquée. On voit qu'au fur et à mesure qu'elles se rapprochent de la maturité, leurs noyaux se disposent dans le protoplasma périphérique, tandis que l'huile s'accumule au centre.

M. Vuillemin (1) a signalé un détail de structure qu'on rencontre chez toutes les spores mûres : « Une portion de la membrane de même épaisseur que le reste, dit cet observateur, est différenciée en une sorte de *calotte operculaire* analogue au bouton brillant des cloisons transversales de nombreux champignons. Cet opercule est directement visible sur les spores prêtes à germer et examinées dans l'eau ; il se distingue par ses contours nets et sa réfringence ; on le prendrait volontiers pour un noyau. L'acide sulfurique étendu le rend plus apparent en le soulevant. Le protoplasma gonflé détermine une turgescence de la membrane et refoule cette région moins résistante que le reste. A la germination, l'opercule ne tombe pas, mais il s'allonge en doigt de gant, de manière à devenir le sommet du filament germe. »

J'ai cherché à me rendre compte de l'origine de ces formations operculaires dont parle M. Vuillemin, et le résultat de mes observations ne s'accorde pas avec la

(1) Vuillemin, *loc. cit.*, p. 48.

description de cet auteur. D'abord, j'ai rencontré souvent jusqu'à 3 de ces zones réfringentes à la surface des spores mûres ; puis j'ai pu constater qu'elles ne correspondent pas à des opercules. Il faut, pour comprendre cette disposition anatomique, examiner avec soin la membrane de spores un peu moins âgées ; il est bon d'ailleurs, pour ne perdre aucun détail de leur structure, d'employer le procédé suivant : On dissocie des sporanges ayant séjourné pendant 48 heures dans l'hématoxyline de Grenacher au phénol ou dans l'hématoxyline de Böhmer à l'acide acétique, sur un porte-objet dans du baume du Canada, très liquide, de façon que les spores puissent, au moindre mouvement, rouler dans tous les sens, mais pas trop vite, dans le liquide : on recouvre le tout d'une lamelle, sans faire de pression. On examine ensuite les spores colorées avec un très fort grossissement (1300) : en donnant de temps en temps un très léger choc à la lamelle, on imprime au liquide un mouvement qui entraîne le déplacement des spores : elles roulent ainsi sous vos yeux, et vous ne perdez pas un détail de leur surface. On constate par ce moyen (fig. 96) que leur membrane externe est pourvue de 2 ou 3 petits orifices qui ne sont autre chose que des pores germinatifs. Un peu plus tard, quand la spore est en état de germer, la membrane s'étant dilatée un peu, ces orifices s'élargissent et laissent l'endospore faire une très légère hernie au dehors, affectant la forme d'une calotte, comme l'a très bien vu M. Vuillemin. Le protoplasma ne suit ce mouvement que plus tard, lorsqu'à la germination la membrane s'allonge en doigt de gant. On voit d'ailleurs très nettement le protoplasma à travers ces petites calottes transparentes, et il est certain que dans bien des cas, quand on les regarde de face, on pourrait les confondre avec des noyaux. Mais en faisant mouvoir les spores, comme je viens de l'indiquer, l'illusion n'est plus possible. Cette constitution des spores de *Pilobolus œdipus* nous explique pourquoi elles germent si facilement.

Pilobolus ædipus ne présente pas d'autre organe à étudier que son thalle et son appareil sporangial. Il ne nous reste plus, pour compléter cette description, qu'à dire un mot de l'apophyse mycélienne qui supporte le tube sporangifère. Elle est isolée, dès le début de la formation de celui-ci, par une cloison; les derniers vestiges de protoplasma qu'elle contient se transforment complètement en huile, et elle paraît destinée à jouer le rôle d'un réservoir plein de substance nutritive. La matière qu'elle contient est jaune, et ne se colore sous l'influence d'aucun réactif.

On trouve dans toutes les parties des tubes sporangifères de *Pilobolus ædipus* des cristalloïdes de mucorine, sauf dans le sporange. M. Vuillemin a montré que ces cristalloïdes peuvent se concréter en amas étoilés analogues à ceux que j'ai décrits dans la zygospore des autres espèces.

Le genre *Pilobolus* est, de toutes les *Mucorinées*, celui pour lequel certains parasites tels que les bactéries paraissent avoir le plus de prédilection. Je ne crois pas avoir jamais rencontré un pied de *Pilobolus* où elles ne fussent légion. Je m'empresse de dire qu'elles ne peuvent être confondues avec les noyaux, comme le croit M. de Wèvre (1); elles sont surtout abondantes dans le sporange, où elles vivent en colonies nombreuses dans la substance gélatineuse qui entoure les spores.

Pilobolus Kleinii, Van Tieghem. — Cette espèce créée par M. Van Tieghem (2) est extrêmement voisine de *Pilobolus crystallinus*, Tode; on a longtemps confondu les deux plantes, que M. Van Tieghem a séparées en s'appuyant : 1° sur l'existence constante à la surface du sporange de *Pilobolus crystallinus* d'un réseau de lignes blanches hexagonales, qui manque toujours chez *P. Kleinii*; 2° sur la dimension et la couleur des spores qui sont plus

(1) De Wèvre, *loc. cit.*

(2) Van Tieghem, *Troisième Mémoire sur les Mucorinées.*

grandes et plus jaunes dans cette dernière espèce. La structure des deux plantes, que j'ai souvent rencontrées, est absolument identique, et l'on serait bien embarrassé pour dire à quelle espèce appartient un échantillon quelconque, quand il est coloré : la dimension des spores est un caractère insuffisant, car elle est très variable dans les deux cas ; j'ai vu quelquefois des spores de *Pilobolus crystallinus* plus grandes que celles de *P. Kleinii*.

Les tubes fructifères de *Pilobolus Kleiuii* (fig. 97) ont une apparence plus élancée que ceux de *P. ædipus* : cela tient à ce que l'étranglement qui sépare le renflement inférieur du supérieur est très allongé : l'appareil peut atteindre ainsi 8 millimètres de hauteur. Les spores germent très difficilement ; il en résulte que l'étude du développement et de la forme du mycélium dans tous ses détails est moins facile que chez *Pilobolus ædipus* ; on peut cependant, comme l'a fait remarquer M. Van Tieghem, obtenir des cultures très abondantes sur le crottin de cheval.

Le début des tubes sporangifères, dans cette espèce, ne se produit pas comme chez la précédente : le mycélium, au lieu de donner naissance de place en place à des renflements en ampoules, produit de petits filaments grêles, cylindriques qui poussent perpendiculairement au substratum (fig. 98), et dont l'extrémité commence à se renfler plus tard, quand ils ont 4 ou 5 millimètres de hauteur.

Ils sont pleins de protoplasma et de noyaux ; le protoplasma, surtout vers l'extrémité supérieure où il est accumulé, y est tellement dense, que pour bien voir les détails de sa structure, on est presque toujours forcé de comprimer fortement les tubes.

Les noyaux vers l'extrémité sont séparés de la membrane par une couche granuleuse. La partie supérieure des filaments, se dilatant, forme une vaste cavité qui constitue un déversoir pour le protoplasma et pour les noyaux, de sorte que la région inférieure devient plus

claire et se vide peu à peu. Le renflement donne ensuite naissance à un diverticule qui se dilate à son tour, et devient le sporange ; celui-ci s'organise comme chez *Pilobolus ædipus*, et la columelle, très foncée, peut affecter des formes variées, conique, cylindro-conique, etc. Le mode de formation des spores rappelle ce qui se passe chez *P. ædipus*, mais celles-ci contiennent en général 8-10 noyaux, rarement moins ou davantage (fig. 99).

Je n'y ai jamais rencontré le détail de structure que j'ai montré chez *Pilobolus ædipus*, c'est-à-dire des pores germinatifs. La paroi du support est incrustée de noyaux (fig. 99) qui sont particulièrement abondants à la base de la columelle, où ils dessinent une collerette très caractéristique chez toutes les espèces de *Pilobolus* : les détails de cette formation ont été exposés un peu plus haut.

J'ai trouvé dans certaines cultures de *Pilobolus Kleinii* un parasite intéressant (fig. 100) que je n'ai jamais vu que sur cette espèce. Ce sont des colonies de petits organismes amiboïdes, de formes et de dimensions variées, qui entourent comme une gaine le tiers inférieur des tubes sporangifères. Chaque individu de la colonie a une conformation vaguement polygonale, avec des angles très arrondis ; il est aplati, et renferme, au milieu d'un protoplasma absolument homogène, 2 ou 4 noyaux accolés 2 par 2 : ce nombre est invariable, et je n'ai jamais pu rencontrer, de quelque manière que je m'y prisse, ces noyaux indépendants les uns des autres. Ils paraissent toujours arrivés au dernier stade de la division directe et je ne les ai jamais vus ni plus séparés, ni plus réunis que ne le présente la figure 100.

A part leurs noyaux, ces êtres ne montrent aucune trace d'organisation, ni vacuole, ni vésicule contractile, rien que du protoplasma.

A la partie inférieure de la colonie, quelques individus se détachent et rampent à la surface du renflement et quelquefois de l'apophyse mycélienne : les mouvements

sont extrêmement confus, et je n'ai jamais vu que ces organismes possédassent des pseudopodes.

Ces colonies s'appliquent d'une façon si parfaite sur le tube sporangifère, qu'on croirait au premier abord qu'elles font corps avec lui ; l'aspect qui résulte de cette union intime donne l'illusion d'une organisation en tissu du protoplasma à l'intérieur des filaments ; je m'y suis trompé les premières fois que j'ai rencontré le parasite. Quand celui-ci se développe sur les tubes sporangifères dont les sporanges sont déjà formés, la plante ne paraît pas souffrir de sa présence. Mais s'il attaque de jeunes filaments cylindriques, ils perdent souvent beaucoup de leur vigueur, et les sporanges ne se forment pas. C'est ce que j'ai pu observer sur des cultures en grand que j'avais contaminées à dessein. Il est bon de faire remarquer cependant que, sous la colonie, la paroi du filament reste absolument intacte.

Le développement de ces organismes est extrêmement curieux. J'en ai vu un certain nombre pourvus de 4 noyaux se scinder par étranglement progressif, en 2 masses contenant chacune 2 noyaux accolés ; la colonie tout entière est le résultat de scissions répétées : tous les individus qui la constituent restent longtemps unis les uns aux autres par une matière gélatineuse que chacun d'eux secrète autour de lui. On croirait avoir sous les yeux des polyèdres sporaires nouvellement formés dans un sporange de *Mucorinée*.

Je suis demeuré dans l'incertitude sur l'identité de ces organismes, et je n'ose encore les nommer.

Je ne crois pas devoir insister davantage sur le genre *Pilobolus* dont les autres espèces que j'ai presque toutes examinées, *P. crystallinus*, *P. nanus*, *P. roridus*, etc., ont une constitution tout à fait analogue à celle que j'ai déjà décrite. Je crois toutefois devoir signaler une espèce que j'ai observée au mois de janvier dernier sur du crottin de cheval, où elle me paraît assez commune : les dimensions et la forme sont tout à fait celles de *P. crystallinus*.

ou de *P. Kleinii*. Mais elle est entièrement jaune, comme *P. nanus*, Van Tieghem, dont elle diffère par tous les autres caractères. Je l'appelle *Pilobolus flavus*. La couleur jaune existe jusque dans le sporange dont la calotte, au lieu d'être noire, est marron clair. Les sporanges de cette plante mettent environ 2 jours à se développer, tandis que dans *Pilobolus nanus* ce phénomène s'opère en quelques heures.

L'examen histologique m'a montré que la couleur jaune est due au protoplasma qui, dans tous les organes, a une nuance orangée très vive. La couleur jaune des spores est encore plus foncée que chez *Pilobolus Kleinii*. Elles germent assez facilement sur le crottin de cheval, mais je n'ai jamais pu observer leur germination sur aucun autre milieu.

Quant à la constitution des différentes parties de cette espèce, elle n'offre aucun caractère que nous n'ayons déjà signalé dans les autres. Les spores ovales mesurent 10-14 μ de longueur et ne présentent pas de pores germinatifs.

Je n'ai jamais observé chez aucun *Pilobolus* les chlamydospores signalées en 1871 par MM. Roze et Cornu chez *P. crystallinus*.

PILAIRA

Pilaira Cæsatii, Van Tieghem.

Le genre *Pilaira*, créé par M. Van Tieghem (1) qui en a décrit 2 espèces, diffère du genre *Pilobolus* par ce caractère, que le sporange, au lieu d'être projeté brusquement, est porté, par une élongation considérable du support, sur les objets où il se fixe au moyen d'une masse gélatineuse fournie par le protoplasma intersporaire. Les supports peuvent ainsi monter jusqu'à 10 ou 12 centimètres

(1) Van Tieghem, *Nouvelles recherches sur les Mucorinées*.

(fig. 101), dit M. Van Tieghem ; je les ai vus atteindre jusqu'à 15 centimètres de hauteur ; ils sont très grêles, et se fanent presque immédiatement après la fixation du sporange.

Ces caractères morphologiques entraînent forcément des différences de structure avec le genre *Pilobolus*.

J'ai pu étudier une des deux espèces décrites par M. Van Tieghem, *Pilaira Cæsatii*. Je l'ai vue plusieurs fois sur du crottin de cheval, et je l'ai cultivée aisément en grand sur d'autres milieux, tels que la bouillie de farine.

Comme l'a montré M. Van Tieghem, les sporanges sont formés bien avant l'élongation des tubes qui les supportent. Dès que les filaments ont un centimètre de hauteur, on voit leur extrémité se renfler en une tête d'abord jaune, puis noire. Quand les tubes ont 3 ou 4 centimètres de long, les spores sont déjà complètement formées. Les tubes fructifères, dressés à l'extrémité de rameaux mycéliens, sont garnis d'un protoplasma abondant riche en noyaux, jusqu'à la formation du sporange : après l'apparition de la columelle, le protoplasma devient pariétal, et ne laisse que peu de noyaux fixés dans les membranes (fig. 102). La columelle elle-même, qui est incolore, en contient beaucoup, mais moins que celle de *Pilobolus*, et cette structure constitue un caractère différentiel très net entre les 2 genres.

La formation des spores ne présente aucun détail digne d'être signalé. Les polyèdres protoplasmiques dont elles dérivent, renferment 3-8 noyaux, nombre qu'on retrouve dans les spores mûres (fig. 102).

Quand les sporanges sont définitivement formés, le support accélère sa croissance, qui devient très rapide à partir de ce moment : ainsi, 36 heures après leur apparition, les filaments fructifères mesurent 3-4 centimètres de hauteur : 24 heures plus tard, ils en ont 12 ou 14. On ne trouve plus ni protoplasma ni noyaux, pour ainsi dire, dans les tubes ayant subi cette élongation. M. Van Tie-

ghem a remarqué que le protoplasma en avait disparu, et qu'on n'y rencontrait plus que quelques cristalloïdes de mucorine. Leur membrane est extrêmement mince, simple, hyaline; aussi fléchissent-ils immédiatement : si le sporange se fixe à la paroi d'un cristallisoir, ils l'abandonnent et se flétrissent : si le sporange ne trouve pas de points d'appui, ils sont incapables de le soutenir plus longtemps, et le laissent retomber à la surface du milieu de culture.

M. Van Tieghem a décrit, chez *Pilaira Cæsatii*, des zygosporos que je n'ai jamais pu me procurer.

MORTIÉRELLÉES

La tribu des *Mortierellées* qui compte seulement deux genres, *Mortierella* et *Choanephora*, se distingue des autres *Mucorinées* par l'absence complète de columelle dans le sporange qui est cependant toujours sphérique. Ces plantes ont en outre un système assez complexe d'appareils reproducteurs : on y trouve, en effet, en dehors des sporangiospores, des chlamydospores mycéliennes, des chlamydospores aériennes ou stylospores, et même des zygosporos : mais celles-ci ont été vues très rarement, une fois par Brefeld (1), chez *Mortierella Rostafinskii*, et une autre fois par M. Van Tieghem (2) chez *Mortierella nigrescens*. M. Bainier, qui s'est occupé tout spécialement des zygosporos des *Mucorinées*, les a cherchées en vain chez plusieurs espèces de *Mortierella* : je n'ai pas été plus heureux.

J'ai étudié plusieurs représentants du genre *Mortierella* : les caractères de deux d'entre eux vont être exposés dans ce mémoire ; je n'ai jamais vu aucun *Choanephora*. Les recherches sur presque toutes les espèces *Mortierella* sont extrêmement délicates, et fort embarrassantes. La plupart de ces plantes sont d'une exiguité qui expose l'observateur à de nombreux mécomptes. Le maniement d'appareils sporangifères atteignant un quart de milli-

(1) Brefeld, *Botanische zeitung*, 15 septembre 1876, p. 587, et *Untersuchungen über Schimmelpilze*, *Mortierella Rostafinskii*, 1881.

(2) Van Tieghem, *Troisième Mémoire sur les Mucorinées* (*loc. cit.*), 1876.

mètre ou un demi-millimètre de hauteur n'est pas facile, surtout lorsqu'on veut les soumettre à différents agents fixateurs, colorants, etc. On peut être sûr, après un certain nombre de manipulations, quelque patience qu'on y mette et quelque précaution qu'on prenne, que les échantillons sont en grande partie détériorés : il n'y a plus d'examen sérieux possible. Pour éviter ce grave inconvénient, il faut simplifier, autant qu'on le peut, le manuel opératoire. Pour fixer le champignon, il est bon de ne pas s'adresser à des individus isolés ; on choisit dans une culture l'endroit où l'on rencontre le plus d'organes fructifères, sporanges ou stylospores, et l'on enlève avec précaution une épaisseur de 2 ou 3 millimètres de substratum, sur toute la surface que l'on veut fixer ; le moyen est facile : car le milieu nutritif étant généralement constitué par des champignons en décomposition ou par des excréments d'animaux, a une certaine consistance qui favorise beaucoup l'opération. J'ai récolté ainsi d'innombrables pieds de *Mortierella candelabrum* sur des oreilles de Judas. Il suffit ensuite d'installer tout le fragment, à plat, dans une cuvette basse, large, et remplie d'alcool absolu.

Le plus difficile est de faire de bonnes préparations, sans endommager les objets à examiner. Les coupes sont impossibles : voici un moyen assez simple : on prend une parcelle du milieu nutritif fixé et recouvert des organes qu'on veut étudier ; on la transporte ensuite sur un porte-objets, dans une goutte d'hématoxyline de Grenacher au phénol ; avec de très fines aiguilles, sous une forte loupe, on fait une dissociation minutieuse. On recouvre ensuite avec une lamelle, et, afin d'empêcher l'évaporation, on lute la préparation avec du bitume de Judée. On l'examine ensuite quand on veut : 12 heures suffisent parfois pour que la coloration soit bonne ; 24 heures sont le plus souvent nécessaires ; dans tous les cas, rien n'est plus simple que d'en surveiller les progrès. On étudie enfin les objets dans le bain colorant lui-même, condition particulièrement avantageuse quand il s'agit de l'hématoxyline

au phénol ; malheureusement, les préparations sont irrémédiablement perdues :

Nous allons exposer maintenant les caractères histologiques de deux espèces du genre *Mortierella*.

Mortierella. { *Candelabrum*.
 { *Reticulata*.

MORTIERELLA

Mortierella candelabrum, Van Tieghem et Le Monnier. —
M. reticulata, Van Tieghem et Le Monnier.

Le genre *Mortierella* est resté longtemps inconnu ; c'est bien d'ailleurs un des plus rares de la famille des *Mucorinées*. Il a été créé en 1863 par Coemans (1) qui en a fait connaître une espèce, *Mortierella polycephala*. Les nombreux travaux de M. Van Tieghem, qui a décrit plusieurs espèces, n'ont pas peu contribué à bien faire connaître la nouvelle tribu des *Mortierellées*.

Les caractères du genre sont très nets : le mycélium constitué par des tubes très grêles et que M. Van Tieghem et Le Monnier (2) ont admirablement décrit, a une tendance à s'échapper du milieu nutritif pour s'étaler dans l'air à sa surface, et jusque sur les parois du vase où il est contenu ; il est doué, de plus, d'une odeur alliagée très caractéristique. Ce mycélium aérien donne naissance soit à des tubes sporangifères, soit à de grosses spores échinées, qui sont séparées de lui par de petits pédicelles, et qui peuvent se montrer isolées ou groupées en faisceaux divergents : la partie du thalle cachée dans le substratum renferme souvent des chlamydospores. Si nous ajoutons à ces caractères le manque de columelle dans le sporange, nous aurons montré, en résumé, les principaux traits de la conformation du genre *Mortierella*

(1) Coemans, *Quelques hyménomycètes nouveaux* (Bulletin de l'Académie de Belgique, 2^e série, t. XV, 1^{re} partie, p. 536).

(2) *Loc. cit.*

MM. Van Tieghem et Le Monnier ajoutent à ces détails la présence fréquente d'un gros noyau très réfringent dans les spores.

Mortierella candelabrum, Van Tieghem et Le Monnier.
— J'ai trouvé cette espèce sur des oreilles de Judas en décomposition, et sur des excréments de cobaye. Je l'ai cultivée sur ce dernier milieu stérilisé : j'ai obtenu ainsi la plante en abondance, et j'ai pu l'étudier à plusieurs stades de son développement.

Je ne retracerai pas ici les caractères morphologiques de *Mortierella candelabrum* (fig. 103). MM. Van Tieghem et Le Monnier n'ont rien laissé à dire sur ce sujet.

Que les filaments du mycélium soient plongés dans le milieu nutritif ou qu'ils soient aériens, leur structure est absolument la même. Ce sont toujours de petits tubes cylindriques formés de minces membranes entourant du protoplasma et des noyaux. Lorsque le mycélium doit donner naissance à des appareils sporangifères, on le voit, de place en place, émettre de petits bourgeons (fig. 104), à l'extrémité desquels viennent s'accumuler le protoplasma et des noyaux très nets. Ces petits bourgeons, en continuant leur croissance, fournissent un axe cylindrique à la base duquel se développent des protubérances latérales (fig. 105). Dans certains cas, ce n'est qu'après le développement complet de l'axe qu'apparaissent les branches secondaires ; souvent aussi, celles-ci, en nombre indéterminé, se montrent quand la branche principale est à peine au tiers de sa hauteur. Chaque rameau d'ailleurs présente la même structure, et se trouve plein d'un protoplasma riche en noyaux, mais assez réfringent ; cette réfringence du protoplasma existe aussi dans les tubes mycéliens : elle a été remarquée par MM. Van Tieghem et Le Monnier (1), qui l'ont attribuée avec raison à l'existence de corpuscules gras. Notons en passant ce

(1) Van Tieghem et Le Monnier, *Recherches sur les Mucorinées* (loc. cit., p. 333).

détail dont l'importance est capitale pour l'intelligence de ce qui va suivre. Chaque filament se renfle en un sporange qui, tout d'abord, offre les caractères de tous les autres sporanges de *Mucorinées* : les noyaux très nombreux sont plongés dans le protoplasma dense, mais toujours réfringent. Mais ce dernier, au lieu de se scinder immédiatement en polyèdres sporaires, subit une transformation intéressante que nous n'avons vue nulle part ailleurs.

Avant d'aller plus loin, il est bon de voir ce que nous apprennent les auteurs sur la formation des spores dans le genre *Mortierella*. « Partout, disent MM. Van Tieghem et Le Monnier dans leur étude sur ce genre (1), la formation des spores est précédée de l'apparition dans le protoplasma général du sporange d'autant de noyaux très réfringents qui sont les centres de condensation des spores à venir..... Il arrive cependant que ces noyaux manquent, ce qui n'empêche pas le protoplasma de se segmenter absolument de la même manière ; leur présence n'est donc pas nécessaire..... Mises en liberté, les spores ont donc en général un noyau très net ; mais plus tard ce noyau disparaît le plus souvent, parce que le protoplasma qui l'enveloppe acquiert la même réfringence que lui, et le protoplasma de la spore ne renferme plus que quelques petits granules. Il reparait de nouveau avec un contour plus ou moins net pendant la germination des spores. » M. Van Tieghem dit ailleurs (2) que les espèces du genre *Mortierella* sont les seules *Mucorinées* où la formation des spores soit accompagnée d'un développement de noyaux, phénomène auquel il n'attache que peu d'importance, puisque la présence de ces noyaux n'est pas constante dans toutes les spores.

Le résultat de mes observations ne me permet pas d'interpréter comme MM. Van Tieghem et Le Monnier le phé-

(1) Van Tieghem et Le Monnier, *Recherches sur les Mucorinées*, p. 354.

(2) Van Tieghem, *Nouvelles recherches sur les Mucorinées*, p. 34.

nomène de la formation des spores dans le genre *Mortierella*. On voit bien, en effet, dans le protoplasma avant sa segmentation en polyèdres, apparaître une grande quantité de petites masses très réfringentes. Ce phénomène, sans être absolu, est très général (fig. 107). Mais les noyaux ne sont pour rien dans cette formation. Chacune de ces petites sphères extrêmement réfringentes n'est autre chose qu'un globule graisseux, formé par la réunion d'un grand nombre de particules de même nature, qui donne au protoplasma lui-même sa réfringence spéciale. Quant aux noyaux, on les voit se colorer d'une façon parfaite avec l'hématoxyline phéniquée, et ils ont exactement la même structure que chez toutes les autres *Mucorinées*. Sous l'influence du colorant, ils sont même beaucoup plus nets que les globules graisseux auxquels la couleur générale des préparations enlève beaucoup de leur réfringence. Ces derniers prennent une teinte vague, homogène, comme toutes les formations analogues chez les *Mucorinées*, dans la zygospore par exemple : les noyaux ne s'en détachent que mieux avec leur nucléole extrêmement foncé et la zone périphérique claire qui l'entoure.

Au moment de la formation des polyèdres, l'aspect est encore plus net : dans quelques cas, chaque polyèdre (fig. 108) contient en son centre un gros globule graisseux, autour duquel on peut compter facilement 3-6 noyaux. Cette structure n'est pas uniforme : souvent les globules graisseux sont incomplètement formés, et les particules qui doivent les constituer ne sont pas fusionnées; on voit alors, au centre des spores (fig. 109), des masses sombres multilobulées, ayant l'apparence de petites morulas.

Dans d'autres cas enfin, les formations graisseuses n'existent pas.

Il n'est pas rare, d'ailleurs, de rencontrer ces trois modes de constitution des spores dans le même sporange : il peut arriver de même, plus rarement, que toutes

les spores à la fois revêtent le même caractère. Ces globules eux-mêmes sont sujets à des variations : on les voit souvent se désagréger dans les spores mûres (fig. 109), qui sont alors semblables à des spores quelconques de *Mucorinées*. Ils se reforment ensuite assez fréquemment, ainsi que l'ont fait remarquer MM. Van Tieghem et Le Monnier.

Nous sommes forcés de conclure de ce qui précède, que les spores de *Mortierella candelabrum* sont plurinucléées, contenant de 3 à 6 noyaux, mais qu'elles sont très souvent caractérisées par la présence d'un gros globule graisseux très réfringent, situé vers leur centre.

Les chlamydospores mycéliennes n'offrent rien de remarquable dans leur structure (fig. 110) : elles contiennent un nombre variable de noyaux (10-20), qui se groupent vers la périphérie, lorsque la spore approche de la maturité.

Les chlamydospores aériennes ou stylospores de *Mortierella candelabrum* n'ont pas encore été décrites. MM. Van Tieghem et Le Monnier (1) ne les ont point rencontrées avec certitude, mais croient seulement pouvoir attribuer à *Mortierella candelabrum* des spores de même taille que celles de *M. polycephala*, mais exactement sphériques, et munies de pointes plus longues et plus fines, qu'ils ont plusieurs fois trouvées à ses côtés, sans pouvoir mettre en évidence le lien qui les unit à lui. M. Bainier (2), qui a étudié une variété de *Mortierella candelabrum* à spores ovales, n'a pu rencontrer ses stylospores.

J'ai été assez heureux pour les voir d'une façon très nette dans une culture faite sur des excréments de cobaye ; elles me paraissent correspondre d'une façon assez exacte aux organes auxquels MM. Van Tieghem et Le Monnier font allusion dans le passage cité plus haut ; ce sont bien, j'en suis convaincu, les stylospores de *Mortierella candela-*

(1) Van Tieghem et Le Monnier, *Recherches sur les Mucorinées*, p. 362.

(2) Bainier, *Observations sur les Mucorinées* (*loc. cit.*).

brum que ces observateurs avaient rencontrées. Je les ai trouvées cependant un peu plus grandes que celles de *M. Polycephala*. MM. Van Tieghem et Le Monnier indiquent pour ces dernières un diamètre de 20μ ; celles de *Mortierella candelabrum* ont souvent $25-30\mu$ de diamètre. Les aiguilles qui hérissent leur surface sont fines et allongées comme dans les spores qu'ont entrevues MM. Van Tieghem et Le Monnier, sans pouvoir se prononcer sur leur origine.

J'ai rencontré ces organes à plusieurs états de leur développement. Ils naissent à l'extrémité d'un court pédicelle (fig. 111) issu du mycélium, et se présentent sous la forme d'un renflement contenant un protoplasma très dense, pourvu d'un nombre variable de noyaux. Plus tard (fig. 112), la spore a considérablement grossi; quand ses aspérités commencent à se former sous la membrane où elle s'est organisée, il faut l'écraser dans le collodion pour l'étudier: on y voit le protoplasma devenu plus lâche, et les noyaux répartis çà et là dans sa masse: à maturité, la membrane du filament ayant complètement disparu, la spore, à l'extrémité de son pédicelle, est recouverte d'épines assez longues et fines; son protoplasma est vacuolaire, et les noyaux occupent toute la région pariétale. Les enveloppes sont au nombre de deux, l'exospore échinée, épaisse, et l'endospore lisse, très délicate. La périspore ou membrane provenant du filament a complètement disparu.

Mortierella reticulata, Van Tieghem et Le Monnier. — J'ai rencontré cette espèce en même temps que la précédente et sur le même milieu de culture, des oreilles de Judas en décomposition; quelques semaines plus tard, elle poussait de nouveau sous mes yeux sur des excréments de lapin; l'y ayant vue très vigoureuse, je la semai sur ce dernier substratum, et j'en obtins une abondante culture.

Cette espèce a un port qui diffère beaucoup de celui de la précédente (fig. 113); ses sporanges, qui ne ren-

ferment souvent que 3 ou 4 spores, sont situés à l'extrémité de tubes qui ne sont pas directement issus du mycélium : ils lui sont réunis par une masse de crampons de forme très variable : les spores sont assez grandes et sont souvent un peu triangulaires. Quand un axe issu des crampons a formé un sporange, on voit à peu de distance au-dessous de celui-ci naître deux petites branches opposées, qui se terminent également chacune par un sporange de formation secondaire.

La structure de cette espèce ne diffère pas sensiblement de celle de la précédente : sur le mycélium dont le protoplasma réfringent, d'abord assez serré, devient plus tard vacuolaire, naissent çà et là de petites protubérances pleines de noyaux (fig. 114). Elles grossissent et émettent de tous les côtés des diverticules plus ou moins allongés (fig. 115). Parmi ces diverticules, 2 ou 3 s'allongeant plus que les autres, formeront des tubes sporangifères : les autres resteront à l'état de crampons. Le protoplasma et les noyaux s'engagent plus spécialement dans les premiers à l'extrémité desquels ils forment une masse compacte. Les phases qui précèdent ou accompagnent la formation des spores, ne sont que la répétition de ce qui se passe chez *Mortierella candelabrum*. On assiste à l'organisation des globules graisseux qui apparaissent au nombre de 3 ou 4 par sporange. Au moment de la segmentation du protoplasma (fig. 116), chaque polyèdre contient un gros globule et 10-15 noyaux disposés autour du globule : à ce moment les sporanges inférieurs commencent leur évolution. Plus tard (fig. 117), la membrane du sporange principal s'étant résorbée, laisse les spores à nu, tandis qu'elles sont à peine formées dans les sporanges latéraux.

L'existence du globule graisseux n'est pas constante (fig. 118) ; on observe à ce point de vue dans les spores toutes les variations que j'ai signalées chez *Mortierella candelabrum*.

Les chlamydospores mycéliennes sont presque tou-

jours sensiblement sphériques, situées sur le trajet des filaments ou à leur extrémité; elles contiennent de 15 à 30 noyaux que l'hématoxyline de Böhmer fait admirablement ressortir. Quand elles sont situées à l'extrémité des filaments, un dernier vestige de ceux-ci apparaît encore à leur partie supérieure (fig. 119).

Les spores échinées, mesurant de 30 à 40 μ , se développent comme celles de *Mortierella candelabrum*, mais elles contiennent un nombre de noyaux supérieur 25-35 (fig. 120).

Je dirai pour terminer ce qui a trait à cette tribu, que les tubes sporangifères ont une enveloppe toujours simple, amorphe, et dans laquelle on ne trouve jamais ni de protoplasma, ni de mucorine, ni de noyaux incrustés. Les sporanges emprisonnent tout le protoplasma et tous les noyaux, et cette constitution est un caractère histologique distinctif des *Mortiérellées*, lequel, joint au mode de formation des spores, affirme encore davantage l'autonomie de cette tribu par rapport aux autres *Mucorinées*.

SYNCÉPHALIDÉES

La quatrième et dernière tribu de la famille des *Mucorinées* porte, dans la classification de M. Van Tieghem, le nom de *Syncéphalidées*. Trois genres, *Synccephalis*, *Piptocephalis* et *Synccephalastrum* représentent ce groupe : nous ne nous occuperons ici que des deux premiers, n'ayant jamais observé le troisième.

Le genre *Piptocephalis* a été le premier signalé en 1864 par Fresenius (1), puis étudié par de Bary et Woronine (2) qui lui ont donné son nom. L'espèce rencontrée par ces auteurs était *Piptocephalis Freseniana* dont Brefeld (3) a fait une monographie très belle et très complète, car il a pu étudier en détail les zygosporos de cette plante. D'autres espèces ont été, depuis, décrites surtout dans les nombreux travaux de M. Van Tieghem. Elles sont toutes des parasites redoutables des autres *Mucorinées* (*Mucor*, *Pilobolus*, etc.). Leur parasitisme est nécessaire, c'est-à-dire qu'elles ne peuvent vivre sur un autre terrain; il leur faut des tubes mycéliens ou fructifères de *Mucorinées* pour se développer (4).

Le genre *Synccephalis*, créé par MM. Van Tieghem et Le Monnier, qui en ont fait connaître plusieurs types, ne se comporte pas de la même manière. On le rencontre souvent à l'état de parasite sur les autres plantes de la

(1) Fresenius, *Botanische Zeitung*, 1864, p. 154.

(2) De Bary et Woronine, *Beitrage*, 2^e série, 1866, p. 23-24.

(3) Brefeld, *Untersuchungen über Schimmelpilze*, p. 41, août 1872.

(4) Van Tieghem et Le Monnier, *Recherches sur les Mucorinées*, loc. cit., p. 372.

même famille, mais ce parasitisme est facultatif, c'est-à-dire que les espèces de *Syncephalis* peuvent devenir très vigoureuses sur des milieux de culture très différents.

M. Van Tieghem (1), considérant ce parasitisme facultatif comme un indice de supériorité des *Syncephalis* sur les *Piptocephalis*, a cru devoir faire du premier genre le véritable type de la tribu, et le nom de *Syncéphalidées* a remplacé celui de *Piptocéphalidées*.

Le principal caractère du groupe consiste dans la forme du sporange, que nous avons vu jusqu'à présent sphérique (*Mucorées*, *Mortierellées*), ou hémisphérique, (*Pilobolées*), et qui devient ici cylindrique. La formation des spores a donné lieu à de nombreuses discussions. Jusqu'au moment où fut publié le mémoire de MM. Van Tieghem et Le Monnier, on considérait les spores de *Piptocephalis* comme étant de formation exogène ; Brefeld lui-même a professé cette erreur dans sa monographie de *Piptocephalis Freseniana* : MM. Van Tieghem et Le Monnier ont démontré d'une façon irréfutable que les spores, dans cette tribu, naissent à l'intérieur de sporanges cylindriques dont la membrane se résorbe rapidement après leur formation. Mais, étant données l'étroitesse des cylindres et la segmentation transversale du protoplasma, les spores sont disposées en séries longitudinales. L'erreur admise par Fresenius, de Bary et Woronine et Brefeld provient de ce que l'étude de tous les représentants de cette tribu est fort difficile, à cause de leur taille microscopique. Nous avons vu que certaines espèces de *Mortierella* sont très petites ; mais leurs spores ont souvent de grandes dimensions, et la constitution de leur sporange se met aisément en évidence. Chez les *Syncéphalidées*, les baguettes sporangiales sont très étroites, et comme elles forment presque toujours, à la surface d'un renflement terminal, un faisceau assez compact, l'observation rigoureuse devient extrêmement délicate.

(1) Van Tieghem, *Nouvelles recherches sur les Mucorinées*, loc. cit., p. 114.

On conçoit que les recherches histologiques, avec les manipulations qu'elles exigent, deviennent dans ce cas assez embarrassantes. Le parasitisme de ces plantes est ici d'un grand secours : les tubes de *Mucorinées* sur lesquels se développent leur thalle et leur appareil reproducteur, constituent un substratum d'un maniement très simple, et il faut fixer et colorer à la fois le parasite et la plante hôtalière. C'est à cette seule condition qu'on peut espérer faire de bonnes préparations : si l'on veut isoler les individus à étudier, on les déchire, leurs baguettes sporangiales se détachent, et l'on n'a plus que des débris informes.

Nous n'avons pas été, dans nos nombreuses cultures de *Mucorinées*, sans rencontrer plusieurs espèces de *Syncephalis* et de *Piptocephalis* qui sont, comme parasites, le plus redoutable fléau de la famille.

L'analogie frappante de structure qui existe entre tous les représentants de ces deux genres, nous a décidés à ne décrire qu'une espèce de chacun d'eux.

<i>Syncephalis</i>	<i>Cornu</i>
<i>Piptocephalis</i>	<i>Microcephala</i> .

SYNCEPHALIS

Syncephalis cornu, Van Tieghem et Le Monnier.

Si parmi les différentes espèces de *Syncephalis* que j'ai examinées j'ai choisi *S. cornu* pour en décrire la structure, c'est que cette plante est la seule *Syncephalidée* dont je me sois procuré les zygospores, qui ont déjà été signalées et étudiées par M. Van Tieghem dans son e cond mémoire. J'ai trouvé deux fois cette espèce, dans une vaste culture de *Rhizopus nigricans* au mois de juin 1894 et plus récemment, au mois de février dernier, sur *Mucor rigidus* cultivé également en grand. Je pus voir tous les ravages causés par le parasite, tels que M. Van Tieghem les a montrés, avec sa précision habituelle.

Sans revenir sur des détails morphologiques bien connus, je rappellerai seulement que les filaments mycéliens de *Syncephalis* sont extrêmement grêles, s'anastomosent à chaque instant entre eux, que chacun de leurs points de rencontre est le siège d'un petit renflement, et que leur masse constitue une espèce de toile qui s'étend en l'air de tous les côtés supportant une véritable forêt de tubes sporangifères. Cette disposition spéciale est assez favorable aux investigations ; elle permet de fixer en masse le mycélium et les tubes fructifères, et de les examiner à des états de développement variés.

Syncephalis cornu se fait remarquer surtout par la forme de son appareil sporangifère semblable à un point d'interrogation (fig. 121). Le renflement qui supporte les baguettes sporangiales est situé à l'extrémité d'un filament très arqué, élargi vers son milieu, et rétréci au niveau du point où naît le renflement. Les sporanges forment une masse assez compacte.

Le début de cet appareil rappelle un peu ce qui se passe dans le genre *Mortierella*. On voit naître, en des points du mycélium très rapprochés les uns des autres, des groupes de crampons où viennent se déverser le protoplasma et les noyaux fournis par le thalle ; parmi ces crampons, un seul se développe plus que tous les autres, et, entraînant protoplasma et noyaux, devient un tube sporangifère. Il se recourbe presque immédiatement, et son extrémité se renfle en une tête à peu près sphérique qui servira de soutien aux sporanges. Cette tête elle-même constitue un réservoir dans lequel viennent s'emmaganiser presque tout le protoplasma et la plupart des noyaux (fig. 122). On n'en voit plus qu'un petit nombre à l'intérieur du tube.

Cette ampoule terminale ne tarde pas à émettre à sa surface une grande quantité de petits diverticules en doigts de gant, qui sont le début d'autant de sporanges. Chaque diverticule contient tout d'abord 3 ou 4 noyaux (fig. 122) qui sont le résultat d'une prolifération active de ceux

que contient le renflement. Je les ai vus se diviser par le mode direct à la base des doigts de gant, avant de s'y introduire. Ceux-ci s'allongent beaucoup, prennent la forme de baguettes cylindriques dans lesquelles on peut trouver 25-35 noyaux ; il y a alors formation d'un protoplasma sporaire et d'un intersporaire comme dans les autres *Mucorinées* : mais chacun des fragments sporaires, étant une fraction de cylindre, puisque cette segmentation est transversale, est lui-même cylindrique. On y voit 4 ou 5 noyaux, rarement 3 ou 6, et le nombre des segments est en général de 6 ou de 7 (fig. 123).

La membrane du sporange se dissout de très bonne heure, ce qui explique qu'elle a passé longtemps inaperçue, et les spores dont la membrane externe est assez épaisse restent dans leur position première (fig. 124), placées bout à bout, maintenues les unes sur les autres par un anneau plus ou moins épais de protoplasma intersporaire non gélifié. On voit à leur intérieur le protoplasma devenir vacuolaire, se condenser à la périphérie, et les noyaux, très difficiles à distinguer, venir se nicher dans le protoplasma pariétal.

Les détails que je viens d'exposer ne peuvent être perçus qu'à l'aide de puissants grossissements (1200 à 1300 diamètres), et de bonnes colorations : c'est l'hématoxyline de Böhmer à l'acide acétique qui m'a donné les meilleurs résultats ; encore ai-je dû presque toujours laisser les objets à examiner pendant 4 ou 5 jours et même davantage dans le bain colorant : il est bon dans ce cas de ne pas mettre trop d'acide acétique, dont l'action prolongée pourrait se faire sentir sur le protoplasma. Le tube sporangère ne contient plus rien après la formation des spores ; j'y ai vu parfois 4 ou 5 noyaux disséminés et fixés dans la paroi.

MM. Van Tieghem et Le Monnier (1), à propos de la disposition des sporanges, s'expriment ainsi : « Les

(1) Van Tieghem et Le Monnier, *loc. cit.*, p. 376.

sporangés en baguettes qui hérissent le renflement sphérique sont probablement portés deux par deux sur des têtes en cœur, mais nous n'avons pu acquérir de certitude sur ce point. S'ils s'inséraient individuellement et directement sur le renflement, comme cela nous a semblé quelquefois, la plante devrait peut-être former un type générique à part. » Je pense que MM. Van Tieghem et Le Monnier ont vu très juste quand ils ont observé les sporanges reliés individuellement et directement au renflement; je ne les ai jamais vus que sous cet aspect, ainsi que le prouvent mes figures et le mode de formation que je viens d'exposer.

J'ai obtenu les zygospores de *Syncephalis cornu*: M. Van Tieghem (1) les a déjà décrites, mais ne me paraît pas avoir vu dans leur formation l'apparition de cloisons secondaires sur lesquelles je vais revenir plus loin.

On sait que deux branches mycéliennes se développant parallèlement, ayant chacune la forme primitive d'un jeune tube fructifère (fig. 125), voient leurs extrémités supérieures qui se regardent, arriver au contact l'une de l'autre. Chacune de ces branches est pourvue d'un protoplasma très dense, contenant de beaux noyaux dont la plupart occupent l'extrémité supérieure de chaque filament. Puis les deux cellules se touchant, une cloison se forme dans chacune d'elles à un niveau différent, d'après M. Van Tieghem: il y a cependant de nombreuses exceptions dans cette position des cloisons à des hauteurs différentes; je les ai vues plusieurs fois (fig. 126) se produire au même niveau. Mais cette disposition est de peu d'importance: ce que je veux signaler, c'est l'apparition d'une autre cloison au-dessus de la première, à l'intérieur de chacune des deux cellules conjuguées. M. Van Tieghem a observé le renflement que produisait le corps protoplasmique de l'œuf au-

(1) Van Tieghem, *Nouvelles recherches*, p. 121.

dessus de tout le système ; mais il n'a pas vu que, de très bonne heure, ce renflement s'isole des 2 cellules sous-jacentes par de nouvelles cloisons qui délimitent la zygospore. Quoi qu'il en soit, la jeune zygospore, qu'on peut étudier avant que sa périspore s'épaississe et devienne jaune, est remplie de protoplasma et de noyaux. Malheureusement elle est extrêmement petite, mesurant 25-30 μ , et on ne peut songer ni à la disséquer ni à la débiter par la méthode des coupes. Il faut l'écraser dans le collodion. J'ai pu me rendre compte, par ce procédé, qu'elle laissait échapper, au milieu de l'huile qu'elle contient, *sphères embryonnaires* qui, bien que petites, sont très nettes ; elles mesurent 5 ou 6 μ de diamètre.

Dans quelques autres espèces de *Syncephalis* que j'ai pu examiner, j'ai trouvé un développement de l'appareil sporangifère absolument semblable à celui que je viens d'indiquer.

Mais je n'ai jamais vu d'autres zygospores.

Dans deux ou trois cas j'ai rencontré les stylospores de ces plantes. Malheureusement elles sont très petites, et l'étude en est très difficile. Jeunes, elles sont plurinucleées, contenant 4 ou 5 noyaux, mais à maturité, elles deviennent échinées, et leur petite taille (5-6 μ) oppose un obstacle à peu près insurmontable à tout examen.

PIPTOCEPHALIS

Piptocephalis microcephala, Van Tieghem.

J'ai trouvé en assez grande abondance dans une culture de *Pilobolus Kleinii* un *Piptocephalis* que je crois être *P. microcephala*, Van Tieghem ; la disposition de l'appareil fructifère, dans l'espèce que j'ai étudiée, répond à la description donnée par M. Van Tieghem. Les spores auxquelles M. Van Tieghem attribue 3 μ en lar-

geur m'ont paru en avoir le plus souvent 4, quelquefois 5. La tige principale contient des cloisons d'un caractère particulier, comme chez *P. microcephala*, Van Tieghem.

L'appareil fructifère, dans cette espèce, est porté à l'extrémité de rameaux extrêmement fins, dernières branches de dichotomies successives (fig. 128). Les petits rameaux, quand ils sont jeunes, ont une structure commune à toutes les *Mucorinées*. Ils sont bourrés de protoplasma et de noyaux, surtout vers leur partie terminale (fig. 129). Comme chez *Syncephalis cornu*, on les voit se renfler en petites têtes, sur lesquelles naissent des diverticules digitiformes qui sont les sporanges (fig. 130). Cette tête sporangifère mesure, d'après M. Van Tieghem, 3 ou 4 μ de diamètre. Dans les échantillons que j'ai eus sous les yeux, j'ai compté souvent 6 ou 7 μ , ce qui m'a fait hésiter longtemps à considérer mon espèce comme *P. microcephala*.

D'ailleurs ces détails n'ont pour nous qu'une importance secondaire : notre espèce n'est peut-être qu'une variété de celle de M. Van Tieghem. Dans chaque jeune sporange, le protoplasma se divise en 2 tronçons sporaires contenant chacun 2 ou 3 noyaux, quelquefois 4, et séparés l'un de l'autre par un disque de protoplasma intersporaire (fig. 131). Les spores après disparition de la membrane du sporange restent accolées 2 par 2 à la surface de la petite tête, dans laquelle on trouve encore parfois 1 ou 2 noyaux (fig. 132). A maturité (fig. 133), leur membrane s'épaissit, prend un double contour, leur protoplasma devient pariétal, et elles contiennent toujours 2 ou 3 noyaux.

Les filaments principaux renferment, ainsi que l'a montré M. Van Tieghem, des cloisons dont la disposition est intéressante. Elles ne sont pas fermées, elles sont pourvues d'un orifice circulaire central (fig. 134), dont les bords se relèvent en se dirigeant vers le haut. Je crois que ces cloisons n'ont rien de commun avec celles qu'on rencontre dans les différents filaments des *Mucorinées*.

Elles ne sont pas abandonnées ici par le protoplasma. Ce sont des dépendances de la membrane interne des tubes qui sont recouverts de 3 enveloppes : une externe mince, une moyenne qui se colore en jaune-brun, et qui est très épaisse, et une interne très mince comme la première, et qui étend de place en place des lames circulaires à l'intérieur des tubes.

J'ai rencontré d'autres *Piptocephalis* : leur constitution est identique à celle de *P. microcephala*, mais les sporanges contiennent en général un plus grand nombre de spores : leur formation est toujours la même.

Je n'ai jamais pu observer une seule zygospore de *Piptocephalis*.

Ce qui ressort d'une façon très nette de nos recherches sur la tribu des *Syncéphalidées*, c'est la confirmation absolue des belles découvertes de M. Van Tieghem sur l'origine et la formation des spores. Il est hors de doute qu'elles se forment sous la membrane du sporange, et qu'elles sont séparées non seulement les unes des autres, mais même de cette membrane par du protoplasma intersporaire.

ÉTUDE DE LA GERMINATION DES SPORES

J'ai cru devoir résumer en quelques pages, et dans un chapitre spécial, les résultats de mes recherches sur la germination des différentes espèces de spores de *Mucorinées*. J'aurais pu, pour chaque individu, à la suite de la description qui lui était consacrée, donner un aperçu de la façon dont germent ses spores : mais l'étude même du sujet m'a montré combien était inutile et à quelles répétitions inévitables m'entraînait ce mode d'exposition.

Il est bien entendu qu'ici nous ne nous occuperons que des phénomènes anatomiques qui se rattachent à la germination. L'expérience nous a prouvé que ces phénomènes sont rigoureusement identiques chez toutes les espèces, pour une catégorie déterminée de spores. Ainsi, toutes les sporangiospores ont la même structure au moment où elles germent, quelque facile ou difficile, quelque lent ou rapide que soit cet acte. Il en est de même pour les zygosporos. Règle générale, le milieu n'a pas la moindre influence sur la constitution d'une spore qui germe ; que celle-ci donne naissance à un thalle ou à un appareil reproducteur quelconque, sa structure ne varie jamais. Nous pouvons donc, si nous divisons les spores de *Mucorinées* en 3 catégories, *Sporangiospores*, *Chlamydospores* et *Zygosporos* (1), émettre ce principe général :

(1) J'entends par chlamydospores aussi bien les chlamydospores mycéliennes ou aériennes de certains *Mucor* que les stylospores des *Mortierellées* ou des *Syncéphalidées*. Nous verrons d'ailleurs plus loin que toutes se comportent à la germination comme des sporangiospores.

Dans la catégorie des zygosporos, je range les azygosporos : cela paraît

Toutes les spores d'une même catégorie, dans la famille des Mucorinées, sont, pendant la germination, le siège des mêmes phénomènes anatomiques, à quelque espèce qu'elles appartiennent.

Sporangiospores. — Les recherches histologiques sur des spores qui germent sont très délicates. Rien n'est plus simple que d'obtenir la germination : la grande difficulté consiste dans le choix d'un procédé pratique qui permette de les bien examiner. Voici une façon d'opérer dont je me suis généralement bien trouvé :

Étant donnée une espèce déterminée, soit *Mucor rubescens*, vous choisissez 12 sporanges parmi ceux qui vous paraissent les plus mûrs, et vous installez chacun d'eux, dans une cellule de Van Tieghem, dans une goutte de décoction de crottin de cheval stérilisée avec soin : la stérilisation est de la plus haute importance : si on l'omet, il se produit dans chaque cellule une prolifération prodigieuse de bactéries, qui empêchent tout examen histologique minutieux. Les 12 cellules placées dans la boîte en zinc de Van Tieghem sont examinées de temps en temps, de façon qu'on puisse se rendre compte, avec un grossissement de 200 ou 300 diamètres, des différences de taille que subissent les spores, différences qui ne se montrent qu'après un laps de temps variable suivant les espèces. Supposons qu'on s'aperçoive d'une certaine augmentation de volume au bout de 10 heures, par exemple.

On prépare séance tenante deux porte-objets sur lesquels on dépose une goutte d'hématoxyline de Grenacher phéniquée. On plonge ensuite dans chacune de ces gouttes un des sporanges semés. L'opération ne se fait pas sans peine. Le protoplasma intersporaire gélifié et dissous ne retenant plus les spores, celles-ci deviennent très dif-

au moins étrange au premier abord ; mais cette classification est justifiée par l'opinion que j'ai sur les azygospores que je considère comme des œufs, au même titre que les zygo-spores. (Voir le chapitre spécial consacré à l'étude de *Sporodinia grandis*).

faciles à prendre et l'on ne peut y arriver qu'au moyen d'une petite spatule très mince. On en perd d'ailleurs les trois quarts, mais le reste suffit pour un examen détaillé. Quand elles sont dans le bain colorant, on recouvre la préparation d'une lamelle, et on garnit les bords de bitume de Judée, pour empêcher l'évaporation.

Il ne faut pas moins de 24 heures pour que la coloration soit suffisante.

On répète l'opération que je viens d'indiquer à des intervalles réguliers, toutes les 6 heures par exemple, et l'on peut de la sorte étudier toutes les phases de la germination. J'ai toujours le soin de faire deux préparations différentes, car il n'est pas rare qu'on en rencontre une mauvaise sur les deux. On conçoit aisément d'ailleurs que plus les germinations sont avancées, plus elles sont faciles à manier ; les petits filaments germinatifs s'enchevêtrent en tous sens, et forment une masse compacte qu'on peut enlever d'un seul coup avec la pointe d'une aiguille. En agitant le tout avec beaucoup de précautions dans le bain colorant, un grand nombre de ces filaments se désunissent, et l'on possède ainsi dans chaque préparation une certaine quantité d'échantillons isolés et d'une observation facile.

Remarquons qu'on ne doit pas songer à fixer ces objets délicats, qui se contractent instantanément sous la moindre influence ; l'alcool, le baume du Canada les rendent informes : on ne peut donc les étudier que dans le colorant ; la glycérine seule ne les détériore pas ; mais comme les préparations ne s'y conservent pas plus longtemps que dans l'acide phénique, il est inutile de s'en servir.

Mes recherches ont porté sur un grand nombre d'espèces : *Sporodinia grandis*, une douzaine d'espèces de *Mucor*, *Mortierella candelarbum*, *Pilobolus ædipus*, *P. Kleinii*, et même des *Piptocephalis*. Dans ce dernier genre les constatations deviennent presque impossibles, si l'on n'a la précaution de mélanger les sporanges à ceux d'autres

espèces en germination. Il n'y a pas de confusion possible, la forme et la dimension des spores étant très différentes. J'ai observé partout les mêmes détails. Deux ou trois exemples seront donc suffisants pour donner une idée des modifications anatomiques qu'entraîne le phénomène de la germination. J'ai choisi comme types *Mucor rubescens* (fig. 135), *Sporodinia grandis* (fig. 136), et *Pilobolus œdipus* (fig. 137). On sait que chez certaines espèces les spores augmentent de volume à la germination ; chez d'autres elles restent ce qu'elles étaient : ces modifications n'ont aucune importance, et ne correspondent à aucune différence histologique.

Les spores de *Mucor rubescens* germent très facilement dans la décoction de crottin de cheval stérilisée (fig. 135) : 15 heures après le semis elles se gonflent, et, au moment où apparaît ce changement de volume, on peut constater que les noyaux qu'elles contiennent sont devenus beaucoup plus apparents ; ils paraissent plus gros que ceux de la plante adulte, et leur constitution n'est plus la même. Nous avons vu, chez toutes les *Mucorinées* que nous avons décrites, que les noyaux possèdent un nucléole central très net, sphérique, entouré d'une zone incolore, limitée elle-même par une fine membrane. Cet aspect a totalement changé : le noyau se présente maintenant comme une masse sombre qui se détache avec précision sur le protoplasma environnant, peu abondant. Chaque noyau est fortement granuleux, et l'on n'y distingue plus ni membrane, ni nucléole : les granulations seules se mettent en évidence. Elles sont très serrées, et rappellent tout à fait la chromatine. Elles se comportent comme cette substance vis-à-vis des colorants qu'elles fixent avec avidité.

Vers la vingtième heure, on voit naître sur la spore une petite hernie, produite par l'endospore. Faisons remarquer tout de suite que chez les espèces où les spores se gonflent énormément à la germination, l'exospore très distendue est tellement amincie qu'elle n'est plus visible :

elle fait littéralement corps avec l'endospore ; c'est le cas de *Mucor rubescens*. Cette petite hernie augmente peu à peu, s'allonge en doigt de gant, mais tout d'abord on n'y rencontre ni protoplasma ni noyaux. Elle paraît contenir un liquide incolore. A ce moment, les noyaux contenus dans la spore et surtout ceux qui sont au voisinage du filament germinatif commencent à s'allonger : bientôt l'un d'eux affecte la forme en fuseau et se divise d'une façon très évidente par le mode indirect. En général chaque noyau se divise ainsi à son tour, après que les deux, produits par la division du premier, ont pénétré dans le filament germinatif. Si la spore possède 5 ou 6 noyaux, chacun, par une seule bipartition, en fournit deux à la nouvelle plante. Le phénomène de la bipartition se passe toujours à l'intérieur de la spore ; dans quelques cas très exceptionnels, la bipartition d'un noyau peut se produire dans le filament, mais à très peu de distance de la spore : *en aucun cas les noyaux ne subissent plus d'une bipartition*. Les noyaux nouvellement formés gagnent, entourés de protoplasma, les extrémités des branches qui se ramifient de plus en plus ; on les y rencontre isolés de distance en distance, et à un moment donné, le protoplasma augmentant sous l'influence de la nutrition, ils commencent à se diviser par fragmentation directe, avec une grande rapidité.

J'ai vu quelquefois un ou deux noyaux indifférents, rester, probablement à titre de résidu, dans certaines spores.

Nous voyons que, chez *Sporodinia grandis* les choses se passent de même : comme l'a remarqué M. Van Tieghem, les spores de cette plante germent très bien dans la décoction de crottin de cheval, mais au bout de 48 heures, la croissance s'arrête. J'ai obtenu de belles germinations en semant des sporanges dans de l'eau que je laissais séjourner quelques heures sur des agarics broyés ; filtrée ensuite et bouillie, elle m'a paru constituer un bon milieu de culture : d'ailleurs, comme il n'est pas nécessaire de

suivre les progrès de la culture pendant plus de 48 heures, les semis sur la décoction de crottin sont très suffisants. On sait que les spores de *Sporodinia grandis* peuvent contenir jusqu'à une centaine de noyaux. C'est dans celles qui en contiennent le moins que l'observation est le plus facile : comme elles ne changent presque pas de volume, leur membrane garde son double contour, et l'on observe nettement l'endospore qui forme les filaments germinatifs. Ceux-ci sont déjà assez avancés au bout de 24 heures et l'on voit tous les noyaux subir la transformation que j'ai décrite plus haut (fig. 136). Toutefois, probablement à cause de leur nombre, et peut-être aussi par suite de la largeur du filament germinatif, il arrive assez fréquemment que deux noyaux se divisent à la fois, et passent à peu près ensemble dans le filament. Comme dans le cas précédent, c'est toujours dans la spore même ou tout au plus à la base du filament qu'a lieu le phénomène de division indirecte. Au bout de 30 ou 36 heures, tous les noyaux de la spore se sont ainsi divisés ; ils ont tous pénétré dans les filaments du thalle, et là, ne subissent plus que la division directe.

Chez *Pilobolus ædipus*, les mêmes phénomènes s'observent avec la plus grande facilité : les spores germent immédiatement avec vigueur dans la décoction de crottin. On voit s'en échapper autant de filaments germinatifs qu'il y a de pores, et, les noyaux se divisant en même temps à la base de chacun d'eux, il en résulte qu'au bout de très peu de temps la spore ne contient plus de noyaux, et que la division directe commence de bonne heure (fig. 137). Aussi l'ai-je vue se produire dans des filaments ayant à peine 50 μ de longueur.

Chlamydospores. — Les chlamydospores se comportent au moment de la germination de la même manière que les sporangiospores ; elles ont la valeur de sporanges monospermes, qui, au lieu d'être portés à l'extrémité de filaments, sont dispersés sur leur trajet.

Dans toutes les espèces où on les rencontre, qu'elles

soient mycéliennes ou aériennes (*Mucor racemosus*, *M. circinelloides*), ou échinées (*Mortierella*, *Syncephalis*), leur façon de germer est la même.

Prenons comme exemple les chlamydospores de *Mucor racemosus* (fig. 138). Ronde, ovale ou quadrangulaire, peu importe leur forme, les phénomènes à observer sont les mêmes. Cultivées dans du jus d'orange stérilisé, et traitées de la même manière que les sporangiospores, elles germent au bout d'un laps de temps qui varie de 24 à 48 heures. La chlamydospore se gonfle d'une manière appréciable, et son exospore cartilagineuse s'amincit ; les noyaux qu'elle renferme prennent l'apparence granuleuse et restent situés dans le protoplasma pariétal. Dès qu'un filament germinatif se met à pousser, l'un d'eux commence à entrer en bipartition : on croirait, sous le microscope, voir germer une sporangiospore. Chaque noyau en forme deux ; la division intéresse tous les noyaux les uns après les autres ; il n'en reste bientôt plus dans la chlamydospore, et à partir de ce moment, dans les filaments du thalle, comme dans la plante entière, la division sera directe.

Que se passe-t-il dans une stylospore germente de *Mortierella reticulata* ? Très exactement le même processus, comme on peut le voir d'après la fig. 139. J'ai dessiné des stylospores fortement comprimées entre deux lamelles : l'aplatissement permet de voir ce qui se passe sous la membrane échinée. Un trou qui se forme dans cette dernière permet à l'endospore de venir faire hernie au dehors : tout près de cet orifice, on voit d'une façon très claire, sous la membrane, un noyau se diviser par le mode indirect. Le diverticule formé donne naissance à une série de petits tubes extrêmement fins dans lesquels s'engagent les noyaux divisés ; ils sont comprimés dans ces étroits cylindres, et sont très petits. Tous les noyaux de la stylospore passent ainsi, après une bipartition, à l'intérieur des jeunes filaments.

Le processus qui préside à la germination chez les

chlamydospores est donc le même que celui qu'on observe chez les sporangiospores ; les détails de ce phénomène se reproduisent avec la même netteté et les mêmes caractères dans les spores bourgeonnantes du thalle de *Mucor racemosus*, *M. circinelloides*, *M. rubescens*.

Toutes ces observations sont pour nous la preuve de la grande homogénéité de structure qui caractérise la famille entière des *Mucorinées*.

Zygospores. — La germination des zygospores a été souvent étudiée comme phénomène morphologique, mais personne, à ma connaissance, n'a rien vu de ce qui se passe sous les membranes au moment de l'accomplissement de cet acte : les modifications qu'il entraîne sont assez complexes. Tout ce qu'on en sait, c'est que le protoplasma paraît redevenir homogène au moment où le premier tube germinatif fait son apparition. Les différents stades de la germination ont été étudiés par nous chez *Sporodinia grandis*, chez *Mucor mucedo*, chez *M. rubescens*. On sait parfaitement aujourd'hui qu'une zygospore donne naissance indifféremment à un appareil sporangifère ou à un mycélium, selon les milieux où on la sème. A l'air, sur le chapeau ulcéré d'un agaric, la zygospore donne un filament fructifère ; dans un liquide nutritif approprié, tel qu'une macération de champignons, l'œuf de *Sporodinia grandis* donne un thalle : sur crottin de cheval la zygospore de *Mucor mucedo* produit un sporange ; dans la décoction, un mycélium. Les mêmes faits se renouvellent pour l'œuf de *M. rubescens*, selon qu'il germe sur de la levure de bière depuis longtemps desséchée et rendue un peu humide, ou sur le même milieu auquel on ajoute beaucoup d'eau. Que le produit de la germination soit un thalle ou un sporange, les modifications internes subies par la zygospore sont toujours les mêmes ; elles ont pour siège principal les *sphères embryonnaires*.

Le résultat de mes observations n'étant, pour chaque espèce étudiée, que la confirmation exacte de ce que j'ai vu chez les autres, je décrirai ici les phénomènes qui se

rattachent à la germination de la zygospore de *Sporodinia grandis*, qu'on peut se procurer assez aisément, et dont j'ai exposé pas à pas le développement au début de ce travail. Tout ce que nous dirons pourra s'appliquer strictement à une zygospore quelconque de *Mucor mucedo* ou de *M. rubescens*, par exemple.

Semés sur des agarics, les œufs de *Sporodinia grandis*, quand ils ont été desséchés préalablement pendant quelques jours dans une atmosphère sèche, commencent à germer au bout d'un temps variable. Certaines zygospores germent au bout de 3 jours, d'autres 8 jours après le semis. Il faut, pour être sûr de ses observations, faire plusieurs cultures, et installer dans chacune d'elles un nombre déterminé de zygospores, de place en place, en notant soigneusement l'endroit où chaque zygospore a été semée. On choisira toujours de préférence les œufs les plus gros qui sont les moins difficiles à disséquer.

Au bout de 24 heures, on peut commencer à examiner une des zygospores dans chaque semis, pour voir s'il y a un début de modification dans sa structure ; voici comment la manipulation me paraît devoir être faite ; les membranes, s'étant gonflées sous l'influence de l'humidité, deviennent plus faciles à disséquer, et la périspore cutinisée, au moyen de fines aiguilles, peut se détacher sans trop de mal. Quand elle est à peu près enlevée, on plonge l'œuf mis à nu dans un bain d'héματοxyline phéniquée pendant 24 heures ; on le lave ensuite à l'acide phénique et à l'alcool, et on le dissèque dans l'acide phénique pur ; le défaut de clarté rendrait l'opération trop difficile si on la faisait au sein même du réactif colorant. On déchire l'enveloppe cartilagineuse qui s'est ramollie et qui cède d'autant plus facilement que la germination est plus avancée. L'œuf, largement ouvert et légèrement comprimé, est enfin directement examiné dans l'acide phénique.

Voici d'ailleurs, d'une façon générale, ce qu'on observe dans les zygospores ainsi traitées.

Tout d'abord les *sphères embryonnaires* augmentent considérablement de volume, et dans les 24 heures qui suivent le début de l'augmentation, arrivent à remplir presque complètement la cavité de l'œuf (fig. 140) : leurs membranes se résorbent dès ce moment, et les deux masses dont la substance absolument homogène ne laisse percevoir aucune organisation, arrivent à se toucher et à se confondre.

La masse unique ainsi formée, répartie dans la presque totalité de la zygospore, a une tendance manifeste à se placer vers la région où doit s'échapper le filament germinatif : ce point est presque toujours situé sur l'équateur (fig. 141). A partir de ce moment, toute la masse devient de plus en plus claire, et l'on y voit naître de tous les côtés de petits points sombres qui ne sont autre chose que des noyaux ; tous ces noyaux dont le nombre devient bientôt considérable ont l'apparence exacte de ceux d'une sporangiospore en germination. D'ailleurs, dès que le filament sporangifère ou mycélien commence à poindre, chaque noyau subit une bipartition : tous ou presque tous se divisent ainsi les uns après les autres, et au fur et à mesure qu'ils se scindent, ils pénètrent dans le filament qui ne tarde pas à en contenir un nombre considérable. Quand toutes les bipartitions qui doivent avoir lieu sont terminées (*il n'y en a jamais qu'une par noyau*), les noyaux du filament ne peuvent plus se multiplier que par le mode direct (fig. 142).

En même temps que les noyaux, la mucorine fait son apparition dans la masse des *sphères embryonnaires* réunies et l'on voit souvent les octaèdres pénétrer en même temps que les noyaux dans le tube nouvellement formé.

Ces cristalloïdes de mucorine ne se montrent que lorsque les corps étoilés de mucorine contenus çà et là dans la zygospore ont complètement disparu. La substance des *sphères embryonnaires* englobe ces derniers, et je les ai vus souvent fixés dans sa masse : ils y disparaissent complètement, ce qui semble bien prouver

qu'ils servent à alimenter le protoplasma de la jeune plante.

Quant à l'huile que contenaient la zygospore et les *sphères embryonnaires*, elle s'élimine peu à peu au fur et à mesure que le protoplasma s'engage dans le filament. Ce protoplasma lui-même, après que les premiers noyaux ont gagné le tube germinatif, devient plus lâche et plus clair, et tend à se répartir d'une façon uniforme dans toute la cavité de l'œuf : sa clarté et son peu de densité ne l'empêchent pas d'ailleurs d'être sensiblement homogène.

Ce que nous venons de dire s'applique exactement à la germination des azygospores que nous avons pu suivre avec soin chez *Sporodinia grandis*. La seule différence est qu'une seule *sphère embryonnaire* est chargée de fournir à la nouvelle plante son protoplasma et ses noyaux : mais, tout comme à l'intérieur des zygospores, cette sphère unique augmente de volume, garnit presque tout l'intérieur de l'œuf et vient s'appliquer sur la région dont un des points doit laisser passer le filament germinatif.

Si nous analysons ces différents phénomènes, nous comprendrons maintenant aisément les motifs qui empêchent une zygospore mutilée de cicatriser ses fragments lorsqu'elle est mûre. M. Van Tieghem (1) a fait sur ce sujet des expériences très intéressantes. Cet auteur ayant mutilé à dessein des zygospores, a remarqué que, si l'on voulait obtenir des fragments capables de se cicatriser et de germer, il fallait que le corps de la cellule reproductrice possédât, au moment de la mutilation, un certain degré d'homogénéité ; s'il devient hétérogène comme dans les zygospores mûres, « il faudra, dit M. Van Tieghem, prendre la cellule reproductrice, ou bien avant sa mise en repos, quand elle a encore son

(1) Van Tieghem. *Troisième Mémoire sur les Mucorinées* (Ann. des sciences natur., 1876, p. 318).

homogénéité, ou bien après un commencement de germination, lorsqu'elle l'a reprise. » Le protoplasma pariétal des zygosporos mûres est donc inerte et incapable d'aucun travail organique : seules les *sphères embryonnaires* constituent la partie vivante d'une zygosporos et seules elles sont capables de renouveler l'individu. Les expériences de M. Van Tieghem nous montrent également le rôle prépondérant des noyaux dans la vie de l'individu. Nous savons que dans tout protoplasma homogène chez les *Mucorinées*, les noyaux sont en nombre prodigieux ; qu'ils disparaissent au contraire dans la zygosporos, lorsque le protoplasma se transforme en huile.

On peut conclure des expériences citées plus haut qu'en leur absence, le protoplasma est incapable de tout travail physiologique.

En résumé, la zygosporos est, pendant sa germination, le siège de phénomènes absolument identiques à ceux que nous avons signalés chez les autres spores ; mais le travail de reproduction, au lieu d'être l'œuvre du protoplasma pariétal de la zygosporos elle même, s'effectue dans des organes spéciaux qui sont les *sphères embryonnaires* : leur présence et leur fonction nous autorisent donc à considérer la zygosporos comme un œuf. C'est pour le même motif qu'une azygosporos est également un œuf.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

ET CONCLUSIONS

Si nous voulons maintenant comparer et résumer les différentes notions acquises au cours de nos recherches sur la structure des *Mucorinées*, nous pourrions peut-être nous permettre d'exprimer quelques idées générales, qui s'appliquent à la famille entière, sur la nature et les modifications du protoplasma, et surtout des noyaux dans les divers organes de ces plantes, sur le développement anatomique et la constitution de ces organes.

Du protoplasma. — Les nombreux auteurs qui ont étudié les *Mucorinées* ont tous vu et analysé dans ses caractères généraux le protoplasma de ces plantes. Nous n'avons pas la prétention d'avoir modifié les idées émises jusqu'à ce jour sur sa formation, sur son aspect, sur son rôle physiologique. Trop d'observateurs autorisés avaient exploré ce chemin avant nous, pour qu'il nous fût permis d'y rencontrer des coins inconnus. Il ressort toutefois de nos recherches que la structure du protoplasma est toujours la même dans tous les organes de ces plantes, quand on les étudie au même moment de leur évolution. Dans le mycélium, dans les tubes sporangifères, dans les différentes spores, partout, en un mot, le protoplasma jeune est dense, homogène, et remplit complètement les cavités qui le contiennent : à cet état, *il n'est jamais pariétal*. Il est d'autant plus dense qu'il est plus jeune.

Plus tard, il devient peu à peu moins compact, et commence au bout de quelque temps à montrer de pe-

tites mailles d'une extraordinaire finesse, qui représentent le premier stade de sa modification. Il élabore en même temps de l'huile qui remplit chacune de ces mailles, et cette huile a toujours une tendance à s'accumuler vers le centre des organes. C'est à ce moment seulement que le protoplasma est réellement pariétal. Les mailles périphériques restent toujours plus ou moins serrées, tandis que celles du centre, sous l'accumulation de l'huile, augmentent de volume et ne sont plus limitées que par de minces travées protoplasmiques. Ces modifications, le protoplasma les subit toujours, où qu'il se trouve, à condition qu'il soit stationnaire.

Tous les organes des Mucorinées contiennent donc un protoplasma identique.

Je ne parle pas, bien entendu, des cas fréquents où le protoplasma, animé d'un mouvement rapide, abandonne complètement certaines parties des tubes mycéliens ou fructifères pendant la croissance des plantes, en laissant derrière lui, de place en place, des cloisons. Ces parties restent absolument vides, et ne sont plus le siège d'aucun phénomène vital.

En dehors de l'huile, le protoplasma élabore un produit de la plus haute importance, la *mucorine*. Cette substance se présente à l'état de cristalloïdes dont les diverses formes ont été décrites d'une façon magistrale par M. Van Tieghem. Pour l'illustre botaniste, elle constitue un produit d'élimination, nuisible ou au moins inutile à la plante. Nous avons vu que cette interprétation du rôle de la *mucorine* s'appuyait sur un argument illusoire, l'absence de cette matière dans les spores et surtout dans la zygospore où M. Van Tieghem ne l'a jamais vue.

Nous avons montré que la *mucorine* existe toujours dans le protoplasma de la jeune zygospore, et que son rôle est celui d'une substance nutritive.

La mucorine, loin d'être une matière inutile ou nuisible, est donc, à notre avis, un produit nécessaire au développement de la plante, au moins en ce qui concerne la zygospore.

Des noyaux. — Nous avons mis en évidence à chaque instant, dans ce mémoire, le rôle prépondérant que jouent les noyaux dans la structure de tous les organes des *Mucorinées*. Nous avons établi leur constitution qui est la même partout, quand le champignon est jeune ou adulte.

Le noyau des Mucorinées est sphérique, pourvu d'un nucléole central qui se colore énergiquement sous l'action des réactifs, et d'une membrane; entre la membrane et le nucléole existe une zone circulaire incolore, indifférente à tous les colorants.

Nous pouvons conclure de nos observations que le noyau des *Mucorinées* est exposé à des variations qui peuvent être ou morphologiques ou constitutionnelles. Dans le premier cas, le noyau, sous l'influence de certaines compressions protoplasmiques, devient ovoïde : c'est ce qu'on observe presque toujours dans le protoplasma entraîné par un courant rapide (formation des gamètes).

Les variations dans la structure du noyau sont nombreuses : ainsi, quand le protoplasma de la zygospore commence à se transformer en huile, les nucléoles de certains noyaux s'atrophient et finissent par disparaître complètement, tandis que les nucléoles de quelques autres augmentent beaucoup de volume. Le cas contraire se produit chez toutes les *Mucorinées* ; c'est la membrane qui disparaît et le nucléole qui persiste : nous avons beaucoup insisté sur ce point, la persistance des nucléoles comme ornement de la paroi des columelles et des filaments est un des caractères distinctifs de la famille. Nous avons établi enfin que, dans toutes les spores soumises au phénomène de la germination, les noyaux présentent une structure granuleuse très caractéristique.

Les noyaux des *Mucorinées* se divisent par le mode direct et par le mode indirect : *on observe toujours la division directe par étranglement dans les filaments jeunes ou adultes* : la multiplication des noyaux se fait alors avec une grande rapidité. *La division par karyokinèse ne peut être observée*

que dans un seul cas, à l'intérieur des spores, au début de la germination. Jamais, en dehors de cette circonstance, nous n'avons rencontré de figure karyokinétique dans aucun organe de *Mucorinée*. La division du noyau, par ce dernier procédé, est beaucoup plus lente (1).

Tous les organes des Mucorinées renferment dans leur protoplasma un nombre prodigieux de noyaux.

Nous avons, à dessein, évité de donner les dimensions des noyaux : nous aurions commis une imprudence, car elles varient dans des proportions considérables ; on peut trouver dans un même filament toutes les dimensions de diamètre entre 0μ , 5 à 2μ , 5 ; dans certains cas (zygospores), le diamètre des noyaux peut atteindre 4 ou 5 μ .

Des différentes spores et de leur formation. — Les noyaux jouent un rôle très important dans la formation des spores. Le protoplasma sporaire, dans le sporange au moment de la formation des polyèdres, est rempli de noyaux. Les polyèdres sporaires en contiennent un nombre variable dans la même espèce. Les spores, dans une espèce déterminée, montrent toujours un même nombre de noyaux que les polyèdres dont elles sont issues. Le nombre des noyaux peut être de 2 ou 3 seulement par sporangiospore (*Syncéphalidées*) ; il peut monter à 100 (*Sporodinia*).

Les spores des Mucorinées sont donc toujours plurinucléées.

Les noyaux, lorsque le protoplasma des spores jeunes est homogène, sont répartis presque uniformément dans sa masse : quand il devient trabéculaire, ils se rangent toujours vers la périphérie.

Dans certains cas exceptionnels (*Mortierella*), la formation des spores est accompagnée d'une production graisseuse qui occupe le centre des polyèdres sporaires et des spores elles-mêmes. Nous avons vu que cette production n'a rien de commun avec un noyau, comme l'avait cru M. Van Tieghem, et que les véritables noyaux se distinguent très bien dans le protoplasma environnant.

(1) On la rencontre du moins plus souvent, peut être parce qu'on sait à quel moment précis il la faut chercher.

Les chlamydospores, ainsi que nous l'avons établi, qu'elles soient mycéliennes ou aériennes (*Mucor racemosus*, *M. circinelloides*, *M. rubescens*, *Mortierella*, etc.), sont toujours plurinucléées et présentent absolument les mêmes détails de structure que les sporangiospores.

Nous avons étudié les zygosporos dans plusieurs espèces, et nous avons suivi leur développement complet chez *Sporodinia grandis* et *Mucor mucedo*.

1° Les gamètes ou ampoules copulatrices, arrivant au contact, contiennent un protoplasma abondant homogène et plein de noyaux.

2° La jeune zygosporos montre elle-même des milliers de noyaux répartis à peu près également dans sa masse protoplasmique, dense et homogène. On y trouve des cristalloïdes de mucorine.

3° Un peu plus tard, le protoplasma devenant trabéculaire, le nombre des noyaux diminue considérablement par destruction de leur nucléole. On n'en trouve plus que quelques-uns disséminés dans le protoplasma pariétal. Leurs dimensions sont très inégales.

4° L'huile s'accumule au centre de la zygosporos ; le protoplasma devient de moins en moins abondant ; tous les noyaux disparaissent : à ce moment précis, on voit, près des cloisons, apparaître dans la zygosporos deux groupes de petites sphères, sur l'origine desquelles il nous a été impossible de nous prononcer d'une façon certaine. Ces petites sphères granuleuses et denses ne montrent pas de membrane : nous les avons nommées, à cause du rôle qu'elles sont appelées à jouer, sphères embryogènes.

5° A un stade un peu plus avancé, dans chaque groupe, toutes les sphères embryogènes se fusionnent ensemble : elles forment ainsi dans la zygosporos deux grosses sphères creuses qui, pendant cette fusion, ont emmagasiné en leur centre de l'huile prise dans la zygosporos elle-même.

6° Enfin, les deux sphères qui résultent de l'union des corps embryogènes s'entourent chacune d'une double membrane, et

constituent ce que nous avons appelé les sphères embryonnaires. Leur présence est constante dans toutes les zygosporées de Mucorinées, et leur diamètre, dans chaque espèce, est toujours égal, qu'il y ait isogamie absolue ou hétérogamie prononcée.

7° A la germination, les deux sphères embryonnaires augmentent de volume, perdent leurs membranes; leur substance se mélange, et on y voit apparaître des noyaux constitués comme ceux des autres spores en germination, ainsi que des cristalloïdes de mucorine : ceux-ci proviennent d'une sécrétion du protoplasma des sphères embryonnaires, qui se sont assimilés au préalable les masses étoilées de mucorine qu'on rencontre çà et là dans la zygospore mûre. Les nouveaux noyaux ne pénètrent dans le filament germinatif qu'après s'être divisés chacun une fois par karyokinèse.

Ces différentes considérations sur la zygospore nous semblent avoir été méconnues des auteurs.

Les azygosporées, ainsi que nous l'avons vu, présentent exactement les mêmes phases de développement et la même constitution que les zygosporées. Elles contiennent toutefois une seule sphère embryonnaire au lieu de deux.

Nous avons conclu de ces faits : que l'anastomose des ampoules dites sexuelles, chez les Mucorinées, est un phénomène probablement d'intérêt secondaire; que la zygospore ne doit être considérée comme un œuf qu'à cause du mode de formation et de la présence des sphères embryonnaires. Ce dernier motif nous a amenés à dire que les azygosporées sont également des œufs.

Des enveloppes. — Elles sont, dans les filaments, ou simples ou triples : simples le plus souvent dans le mycélium, elles deviennent triples dans les filaments sporangifères plus ou moins rigides : dans ce cas, l'externe et l'interne restent très minces, la médiane est au contraire épaisse et devient le siège d'une coloration plus ou moins jaune ou brune ou ardoisée (*Sporodinia grandis*, *Rhizopus*, etc.). Très exceptionnellement les enveloppes des filaments sporangifères restent simples et amorphes (*Mortierella*).

Les enveloppes sont au nombre de deux chez les sporangiospores : une *exospore épaisse*, et une *endospore mince*.

La Chlamydospore en compte 3, les deux précédentes, recouvertes par une *périspore*, qui n'est autre chose que la membrane du filament.

Les zygosporos et les azygosporos ont également 3 enveloppes : une *périspore cutinisée*, une *exospore cartilagineuse composée de 2 couches soudées*, et une *endospore extrêmement délicate*.

La similitude remarquable de structure que nous avons observée dans tous les organes des *Mucorinées*, l'analogie de leur développement chez toutes les espèces de la famille, montrent combien celle-ci est homogène : la plupart des caractères que nous avons signalés sont d'ailleurs assez particuliers et assez distinctifs pour qu'on puisse affirmer l'autonomie absolue des *Mucorinées* dans le groupe des *Oomycètes*.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE I

SPORODINIA GRANDIS.

Fig. 1. — Rameau sporangifère de *Sporodinia grandis* (180).

Fig. 2. — Début de l'appareil sporangifère montrant l'origine de la première dichotomie (850).

Fig. 3. — Premier stade du développement des sporanges. Le protoplasma et les noyaux abondent surtout vers l'extrémité des dernières branches (850).

Fig. 5. — Apparition des renflements sporangiaux (850).

PLANCHE II

SPORODINIA GRANDIS (suite).

Fig. 5. — Aspect des sporanges avant la formation de la columelle (850).

Fig. 6. — Division du protoplasma, dans le sporange, en columellaire et sporigène (1000).

Fig. 7. — Formation des spores; division du protoplasma sporigène en sporaire et intersporaire : spores de taille moyenne (1000).

Fig. 8. — Type de sporange à grandes spores (1000).

Fig. 9. — Spore jeune (1200).

Fig. 10. — Spore à l'état définitif (1200).

Fig. 11. — Coupe longitudinale d'un tube âgé de *Sporodinia*, montrant les trois membranes d'enveloppe (850).

Fig. 12. — Coupe transversale du même (850).

PLANCHE III

SPORODINIA GRANDIS (suite).

Fig. 13. — Rameau zygosporifère (100).

Fig. 14. — Début de la formation des gamètes (650).

Fig. 15. — Structure des gamètes un peu avant leur anastomose (650).

Fig. 16. — Ampoule stérile vide de protoplasma et de noyaux; on y voit çà et là quelques cristalloïdes de mucorine (650).

Fig. 17. — Mode de réunion des gamètes dans lesquels le protoplasma et les noyaux s'accumulent lentement au niveau du plan de réunion. Les noyaux conservent leur forme sphérique (850).

PLANCHE IV

SPORODINIA GRANDIS (suite).

Fig. 18. — Autre mode de réunion des gamètes ; le protoplasma et les noyaux affluent en masse vers l'extrémité des ampoules sexuelles : les noyaux resserrés dans les mailles protoplasmiques prennent une forme ovoïde (850).

Fig. 19. — Zygosporé nouvellement formée ; l'enveloppe de l'œuf, non encore cutinisée, a été disséquée, et le protoplasma homogène s'échappe avec les noyaux (850).

Fig. 20. — Coupe longitudinale d'une zygosporé dont la membrane extérieure vient de se cutiniser ; le protoplasma, toujours homogène, contient de nombreux noyaux avec des cristalloïdes de mucorine disséminés dans sa masse (850).

PLANCHE V

SPORODINIA GRANDIS (suite).

Fig. 21. — Vue de profil d'un des petits canaux qui font communiquer pendant quelque temps la zygosporé avec ses suspenseurs ; la partie obliquée du canal plonge à l'intérieur de la zygosporé (850).

Fig. 22. — Vue de face de la partie de l'appareil précédent qui donne dans la zygosporé : les petits losanges noirs représentent des cristalloïdes de mucorine ; les autres, des orifices ménagés dans la paroi qui sépare la zygosporé du suspenseur (850).

Fig. 23. — Fragment de coupe montrant une portion de la membrane cutinisée séparée de la zygosporé jeune : toute la surface du protoplasma recouverte par la membrane est hérissée de pointes qui correspondent à chacun des ornements coniques de l'enveloppe (1200).

Fig. 24. — Coupe transversale de zygosporé plus âgée dans laquelle le protoplasma est trabéculaire et plein d'huile au centre : le nombre des noyaux a diminué : la plupart ont conservé l'apparence ordinaire, quelques autres sont beaucoup plus gros : à ce stade, le protoplasma a déjà sécrété la membrane cellulosique qui le sépare de l'enveloppe cutinisée externe (1000).

Fig. 25. — Fraction de coupe transversale dans une zygosporé mûre, montrant la disposition des trois enveloppes : périspore, exospore cartilagineuse à deux zones stratifiées et endospore très fine (1000).

Fig. 26. Coupe longitudinale de zygosporé au moment de la formation des sphères embryogènes (700).

PLANCHE VI

SPORODINIA GRANDIS (fin).

Fig. 27. — Coupe longitudinale de zygospore au stade de la fusion des sphères embryogènes (700).

Fig. 28. — Etat définitif des sphères embryonnaires dans une zygospore en état de germer (700).

Fig. 29. — Amas étoilés de mucorine et corps oléagineux mutilobulé qu'on trouve dans une zygospore (1000).

Fig. 30. — Section transversale d'un cylindre de protoplasma entouré d'un manchon de cellulose, partant de l'enveloppe cartilagineuse et plongeant dans l'intérieur de certaines zygospores (1200).

Fig. 31. — Différents stades du développement des sphères embryonnaires. — (a). Groupement des sphères embryogènes; — (b) leur fusion en une sphère homogène pleine d'huile; — (c) coupe optique de cette sphère montrant l'huile au centre et la matière protoplasmique ou nucléaire à la périphérie; — (d) apparition de la première membrane; — (e) état définitif de la sphère embryonnaire.

PLANCHE VII

MUCOR MUCEDO.

Fig. 32. — Fraction du thalle montrant quelques tubes sporangifères dressés, à différents stades de leur développement (700).

Fig. 33. — Extrémité d'un jeune tube sporangifère avant la formation du renflement sporangial (1000).

Fig. 34. — Renflement sporangial qu'on a fait éclater pour montrer le protoplasma et les nombreux noyaux qui s'échappent de son intérieur (1000).

PLANCHE VIII

MUCOR MUCEDO (suite).

Fig. 35. — Jeune sporange écrasé montrant des groupes de polyèdres sporaires réunis entre eux par du protoplasma intersporaire (1000).

Fig. 36. — Columelle disséquée après la dissémination des spores pour montrer la disposition des nucléoles fixés comme ornements dans la paroi (1300).

Fig. 37. — Spore jeune et spore mûre (1200).

Fig. 38. — Premier stade de la formation de la zygospore après la réunion des gamètes (850).

Fig. 39. — Coupe longitudinale de zygospore mûre montrant la même structure anatomique que celle de *Sporodinia grandis* (109).

PLANCHE IX

MUCOR RACEMOSUS.

- Fig. 40. — Extrémité renflée d'un jeune filament sporangifère (1100).
Fig. 41. — Début d'un filament sporangifère latéral; les sporanges issus des rameaux latéraux sont beaucoup plus petits que les autres et contiennent beaucoup moins de spores (1200).
Fig. 42. — L'extrémité du filament se renfle en un sporange (1200).
Fig. 43. — Division du protoplasma à l'intérieur du jeune sporange en protoplasma sporigène et protoplasma columellaire: ce dernier, beaucoup plus clair que le sporigène, contient moins de noyaux (1200).
Fig. 44. — Stade de la division du protoplasma sporigène en sporaire et intersporaire dans un petit sporange latéral (1200).
Fig. 45. — Même stade dans un sporange à 6 spores (1200).
Fig. 46. — Même stade dans un sporange à 3 spores (1200).
Fig. 47. — Columelle montrant des noyaux comme celle de *Mucor mucedo*; spores (1200).
Fig. 48. — Filament sur le trajet duquel des condensations protoplasmiques indiquent le début de la formation des chlamydo-spores (1000).
Fig. 49. — Premier stade de la formation des chlamydo-spores; apparition des cloisons qui les limitent (1200).
Fig. 50. — Le protoplasma des chlamydo-spores commence à devenir pariétal et à se transformer en huile vers le centre (1200).
Fig. 51. — Etat définitif des chlamydo-spores: les enveloppes sont entièrement formées, et les noyaux sont devenus beaucoup moins visibles dans le protoplasma tout à fait pariétal (1200).
Fig. 52. — Fragment de thalle bourgeonnant montrant la formation des spores bourgeonnantes (1200).

PLANCHE X

MUCOR CIRCINELLOIDES (53-57).

M. RUBESCENS (58-63). — M. RIGIDUS (64).

- Fig. 53. — Extrémité d'un appareil sporangifère de *Mucor circinelloides* au moment de la formation des renflements sporangiaux (1000).
Fig. 54. — Spores (1000).
Fig. 55. — Columelle après la dissémination des spores (1000).
Fig. 56. — Chlamydo-spores (1000).
Fig. 57. — Thalle bourgeonnant (1000).
Fig. 58. — Aspect général du thalle et de l'appareil fructifère de *Mucor rubescens* (60).
Fig. 59. — Polyèdres sporaires et spore (1000).
Fig. 60. — Columelle (850).
Fig. 61. — Formation de la zygos-pore; réunion des gamètes (300).
Fig. 62. — Coupe de zygos-pore mûre montrant les sphères embryonnaires avec un certain nombre de sections de manchons cellulotiques

plongeant à l'intérieur de la zygospore: ces productions sont particulièrement abondantes dans la zygospore de *Mucor rubescens* (850).

Fig. 63. — Thalle bourgeonnant (1000).

Fig. 64. — Fragment de culture de *Mucor rigidus* jeune (grandeur naturelle); la plante, après complet développement, peut atteindre 6 centim. de hauteur.

PLANCHE XI

RHIZOPUS NIGRICANS.

Fig. 65. — Aspect d'un pied de *Rhizopus nigricans* muni de ses crampons fixateurs (40).

Fig. 66. — Autre forme dans laquelle les tubes fructifères forment un faisceau divergent, non muni de crampons, à l'extrémité d'un filament (1000).

Fig. 67. — Troisième forme: les tubes fructifères sont alternes sur un filament à l'extrémité duquel on trouve de nombreuses ramifications divergentes qui ne sont que des tubes sporangifères avortés (60).

Fig. 68. — Crampons de la base d'un appareil sporangifère, montrant leur protoplasma et leurs noyaux (850).

Fig. 69. — Jeune sporange écrasé; dans le protoplasma dont il est plein, on voit d'innombrables noyaux (850).

Fig. 70. — Fragment de sporange plus âgé dans lequel on voit le protoplasma sporigène se diviser en polyèdres non séparés par du protoplasma intersporaire, stade particulier à *Rhizopus nigricans* (1000).

Fig. 71. — Columelle d'un sporange avec amas de spores en formation; la columelle montre du protoplasma clair et des noyaux. Le protoplasma est beaucoup plus dense dans les polyèdres sporaires (1000).

Fig. 72. — Columelle et spores complètement développées; le protoplasma de la columelle a disparu et les noyaux, réduits à leur nucléole, restent seuls fixés dans la paroi (1000).

Fig. 73. — Spores montrant leurs crêtes méridiennes (1000).

Fig. 74. — Portion de tube fructifère âgé, montrant les 3 membranes d'enveloppe, dont la médiane est beaucoup plus épaisse et colorée en bleu ardoisé (1000).

PLANCHE XII

CHOETOCLOADIUM JONESII (75-78). — C. BREFELDII (79-80).

Fig. 75. — Thalle palmé de *C. Jonesii* avec son protoplasma et ses noyaux (1000).

Fig. 76. — Filament de *C. Jonesii* sur un tube de *Mucor mucedo*; les crampons ne communiquent pas avec l'intérieur du tube de *Mucor*; ils servent seulement à fixer la plante grimpante (1000).

Fig. 77. — Extrémité d'un appareil fructifère montrant de jeunes

sporangies monospermes remplis de protoplasma avec 4-7 noyaux (1200).

Fig. 78. — Spore échinée (1100).

Fig. 79. — Sporangioles monospermes de *C. Brefeldii* avec leur protoplasma et leurs noyaux (1200).

Fig. 80. — Formation de la zygospore ; gamètes inégaux (850).

Fig. 81. — Coupe longitudinale de zygospore en forme de tonnelet ; ce cas est exceptionnel, car elle est généralement sphérique dans cette espèce (850).

PLANCHE XIII

THAMNIDIUM ELEGANS.

Fig. 82. — Appareil fructifère.

Fig. 83. — Thalle (1200).

Fig. 84. — Début de la formation des petits sporangies (1300).

Fig. 85. — Petits sporangies au moment de la formation des spores ; on en voit 3 par sporangie ; spores (1300).

Fig. 86. — Sporangioles monospermes au début de leur formation (1300).

Fig. 87. — Sporangie monosperme écrasé (1300).

Fig. 88. — Spore mûre provenant d'un sporangie monosperme (1300).

PLANCHE XIV

PILOBOLUS OEDIPUS.

Fig. 89. — Aspect général de la plante d'après un échantillon développé sur la paroi d'un cristalliseur (25).

Fig. 90. — Appareil fructifère isolé (300).

Fig. 91. — Début de l'appareil fructifère montrant les noyaux amassés surtout vers l'extrémité (850).

PLANCHE XV

PILOBOLUS OEDIPUS (suite).

Fig. 92. — Appareil sporangifère complet montrant, après l'écrasement du sporangie, les spores plurinucléées et la disposition spéciale des noyaux particulièrement abondants à la base de la columelle et entourés d'un réseau protoplasmique extrêmement fin (500).

Fig. 93. — Fragment de columelle repliée ; les nucléoles y sont fichés et certains d'entre eux se fractionnent en 4 parties (1000).

Fig. 94. — Portion de la zone circulaire selon laquelle se fait la déhiscence du sporangie ; la membrane est percée d'un nombre considérable de petits orifices (1200).

Fig. 95. — Spores contenues dans leurs alvéoles sur la paroi de la calotte sporangiale : deux de ces alvéoles sont vues isolées sur la gauche de la figure (600).

Fig. 96. — Spores vues à deux grossissements différents, pour montrer la disposition des pores germinatifs, cas particulier à *P. œdipus* (850 et 1300).

PLANCHE XVI

PILOBOLUS KLEINII (97-100). — PILAIRA COESATHI (101-102).

Fig. 97. — Appareil fructifère de *P. Kleinii* (20).

Fig. 98. — Début de cet appareil montrant la disposition des noyaux (850).

Fig. 99. — Columelle et spores disséminées (850).

Fig. 100. — Colonie de parasites munis chacun de 2 ou 4 noyaux (850). 3 individus détachés à la droite de la figure (1200).

Fig. 101. — Aspect des filaments sporangifères de *Pilaira Cæsatii* (grandeur naturelle).

Fig. 102. — Columelle et spores disséminées (850).

PLANCHE XVII

MORTIERELLA CANDELABRUM.

Fig. 103. — Port général de l'appareil fructifère (50).

Fig. 104. — Bourgeon sur le mycélium indiquant la formation de la première branche de l'appareil sporangial (850).

Fig. 105. — Stade plus avancé : le bourgeon principal est accompagné de 2 bourgeons latéraux (850).

Fig. 106. — Développement du renflement sporangial (1000).

Fig. 107. — Apparition, dans le renflement sporangial, au milieu d'un protoplasma homogène, de corpuscules graisseux réfringents.

Fig. 108. — Formation des polyèdres sporaires entourant chacun un corpuscule graisseux, autour duquel sont disposés les noyaux (900).

Fig. 109. — Spores à différents degrés de leur développement (1000).

Fig. 110. — Chlamydospores au début de leur développement (1200).

Fig. 111. — Début de stylospore (850).

Fig. 112. — Stylospore (1200).

PLANCHE XVIII

MORTIERELLA RETICULATA.

Fig. 113. — Port de l'appareil fructifère (400).

Fig. 114. — Début de cet appareil sur le mycélium (850).

Fig. 115. — Le même à un stade plus avancé (1000).

Fig. 116. — Formation des spores dans un grand sporange médian : 2 petits sporanges latéraux sont pleins de protoplasma et de noyaux (1200).

Fig. 117. — Formation définitive des spores dans tous les sporanges (1200).

Fig. 118. — Spores triangulaires montrant une structure analogue à celle des spores de *M. candelabrum* (1200).

Fig. 119. — Chlamydospores (1200).

Fig. 120. — Stylospore à 2 stades différents de son développement (1200).

PLANCHE XIX

SYNCEPHALIS CORNU (121-127). — PIPTOCEPHALIS MICROCEPHALA (128-134).

Fig. 121. — Appareil fructifère de *S. Cornu* (400).

Fig. 122. — Début du développement de l'appareil sporangial: chaque bourgeon digitiforme deviendra une baguette sporangiale (850).

Fig. 123. — Sporanges cylindriques au moment de la formation des spores; le protoplasma intersporaire les isole en troncs cylindriques nettement divisés sous la membrane du sporange (1300).

Fig. 124. — Spores après gélification de la membrane sporangiale; elles sont encore réunies entre elles par des rondelles de protoplasma intersporaire (1200).

Fig. 125. — Formation de la zygosporé; gamètes (850).

Fig. 126. — Début de la zygosporé; elle se forme au-dessus du point de réunion des gamètes: les deux cloisons inférieures sont ici au même niveau, ce qui est un cas exceptionnel (850).

Fig. 127. — Zygosporé mûre, écrasée, montrant ses deux sphères embryonnaires (600).

Fig. 128. — Système sporangial de *Piptocephalis microcephala*.

Fig. 129. — Début de l'appareil sporangial (1000).

Fig. 130. — Les sporanges commencent à se montrer sous la forme de petits doigts de gant (1000).

Fig. 131. — Formation des spores; chaque baguette sporangiale contient, à l'intérieur de la membrane, 2 tronçons de protoplasma sporaire séparés par une zone claire de protoplasma intersporaire (1300).

Fig. 132. — Spores au moment de la disparition de la membrane sporangiale (1000).

Fig. 133. — Spores (1000).

Fig. 134. — Tube de *Piptocephalis* montrant une cloison perforée (1000).

PLANCHE XX

GERMINATION DES SPORES.

Fig. 135. — Germination des spores de *Mucor rubescens* (1200).

Fig. 136. — Spores de *Sporodinia grandis* en germination (1200).

Fig. 137. — Spores de *Pilobus ædipus* émettant leurs filaments germinatifs à travers leurs pores (1300).

Fig. 138. — Germination des chlamydospores de *Mucor racemosus* (1300).

Fig. 139. — Germination de la stylospore de *Mortierella reticulata* (1200).

PLANCHE XXI

GERMINATION DE LA ZYGOSPORE.

Fig. 140. — Aspect que prennent les sphères embryonnaires au moment où la zygospore va germer (850).

Fig. 141. — Les sphères embryonnaires ne forment plus qu'une seule masse où apparaissent des noyaux ayant la même structure que ceux des autres spores au moment de la germination (850).

Fig. 142. — Apparition du filament germinatif et division des noyaux par le mode indirect (850).

Toutes les figures de ces planches ont été dessinées à la chambre claire, au moins pour leurs traits principaux, avec des objectifs à immersion de Bézu et Hausser, de Leitz et de Zeiss. Seules les 3 figures de la planche XXI sont semi-schématiques : les périspores sont supposées enlevées pour permettre de voir l'intérieur des zygospores.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages.
INTRODUCTION.	1
HISTORIQUE.	4
TECHNIQUE.	11
ETUDE DES GENRES ET DES ESPÈCES.	19
MUCORÉES	19
<i>Sporodinia</i>	20
<i>Mucor</i>	54
<i>Rhizopus</i>	73
<i>Chætocladium</i>	80
<i>Thamnidium</i>	84
PILOBOLÉES.	88
<i>Pilobolus</i>	88
<i>Pilaira</i>	101
MORTIERELLÉES.	104
<i>Mortierella</i>	106
SYNCÉPHALIDÉES.	114
<i>Syncephalis</i>	116
<i>Piptocephalis</i>	120
ETUDE DE LA GERMINATION DES SPORES.	123
CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES ET CONCLUSIONS.	135
EXPLICATION DES PLANCHES.	143

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

ZOOLOGIE. — Anatomie comparée du système lymphatique chez les vertébrés.

GÉOLOGIE. — Histoire du bassin tertiaire Parisien.

Vu et approuvé, Paris, le 31 Juillet 1895.

Le Doyen de la Faculté des sciences.

G. DARBOUX.

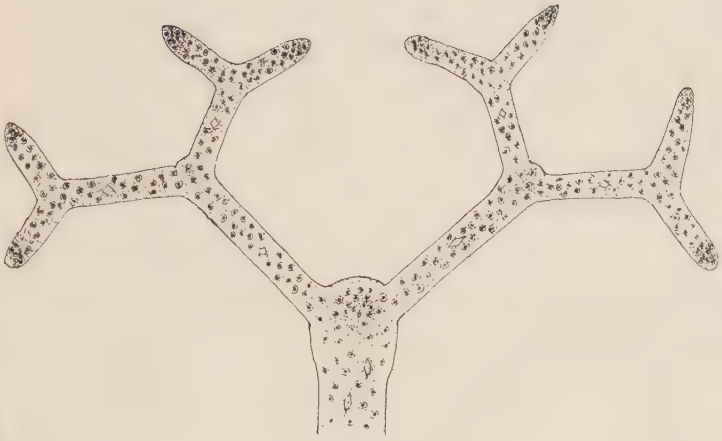
Vu et permis d'imprimer, le 31 Juillet 1895.

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,

GRÉARD.



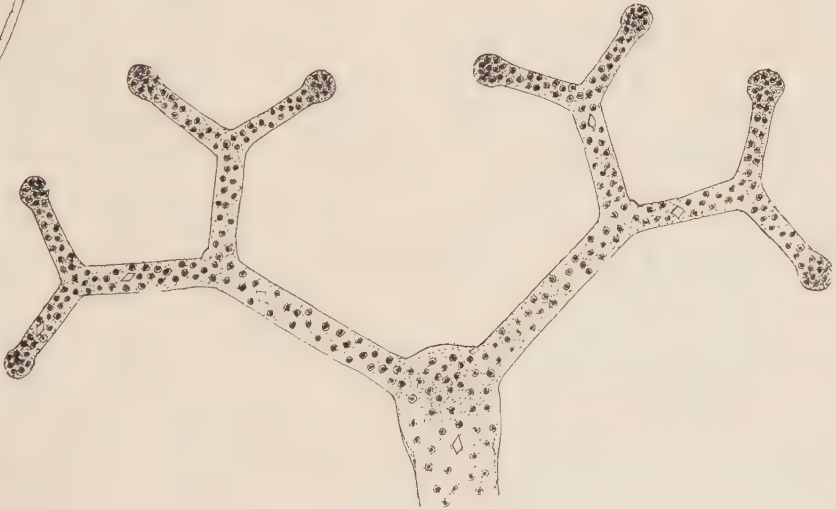
2



3

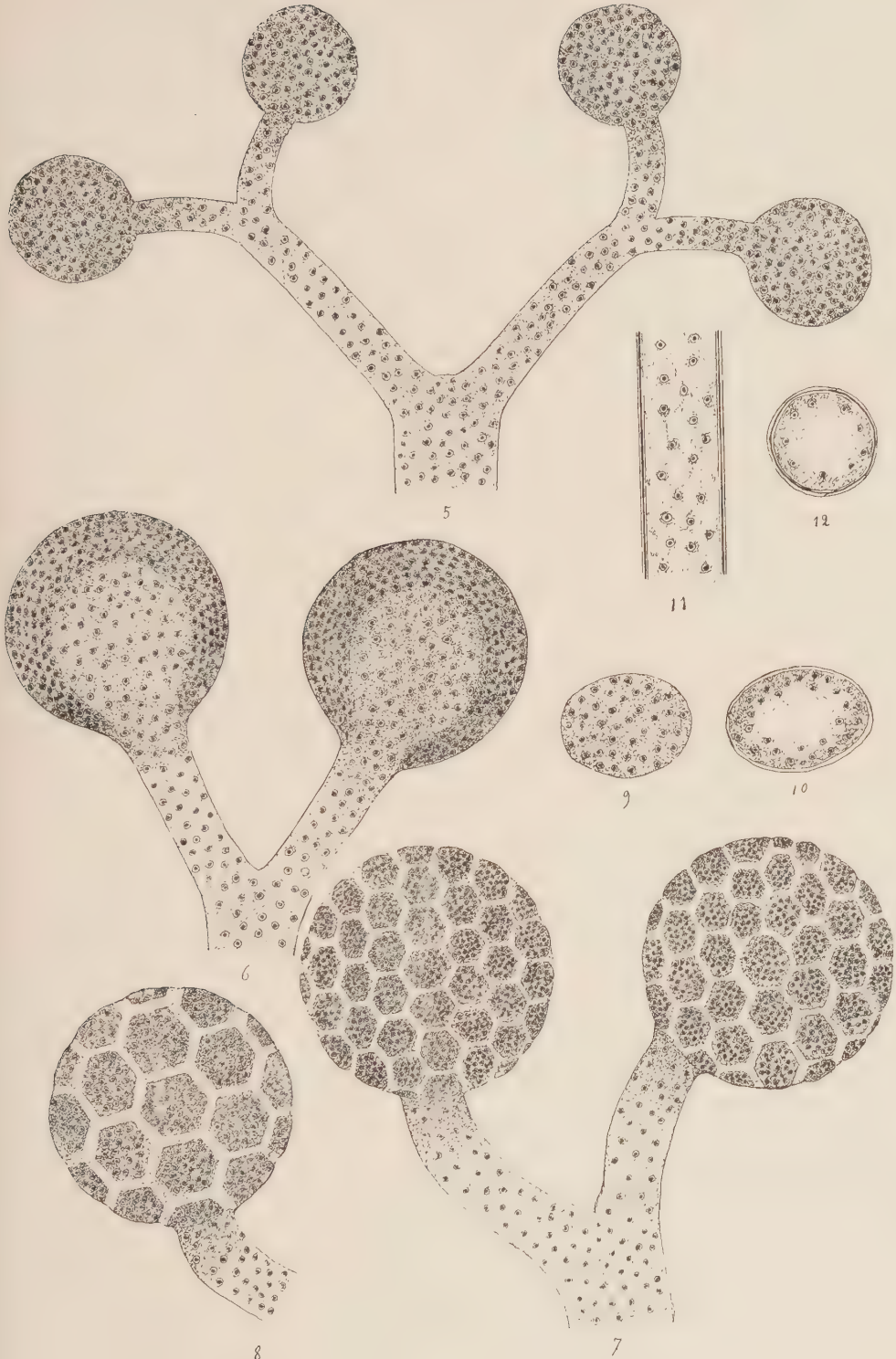


1



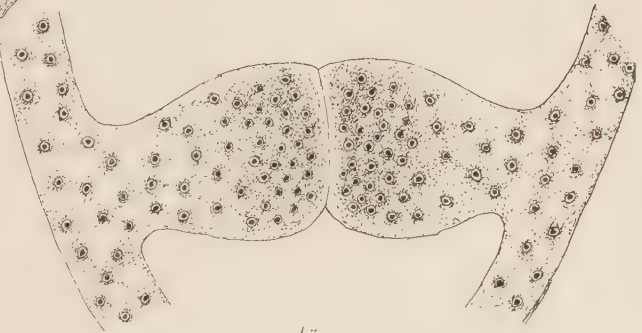
4

PLANCHE II



MAUR. LÉGER ad cam. luc. del.

PLANCHE III



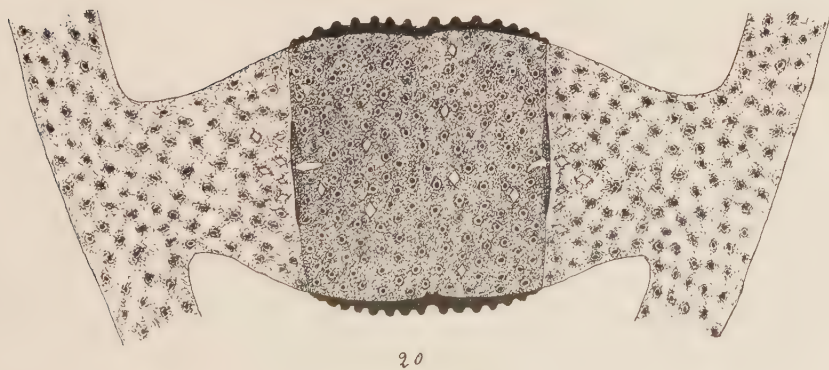
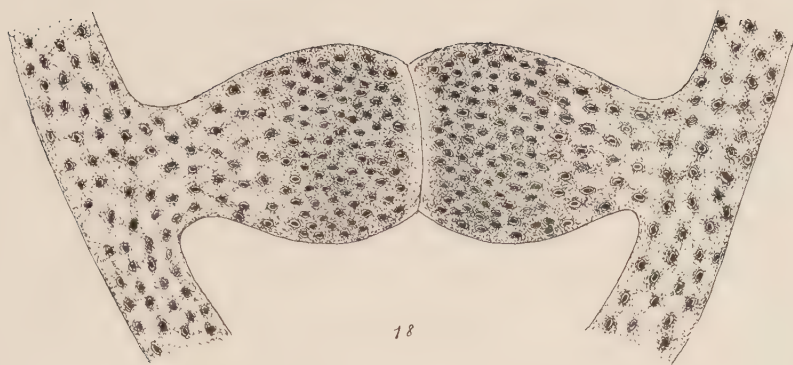


PLANCHE V



21



22



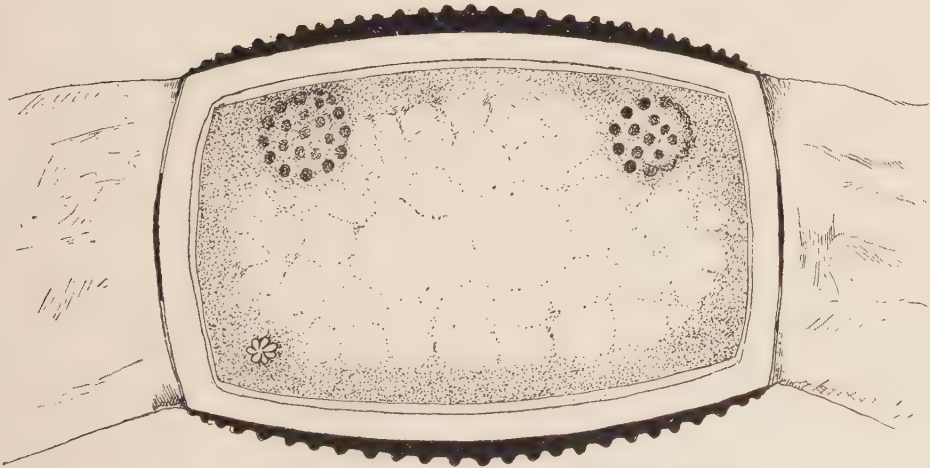
23



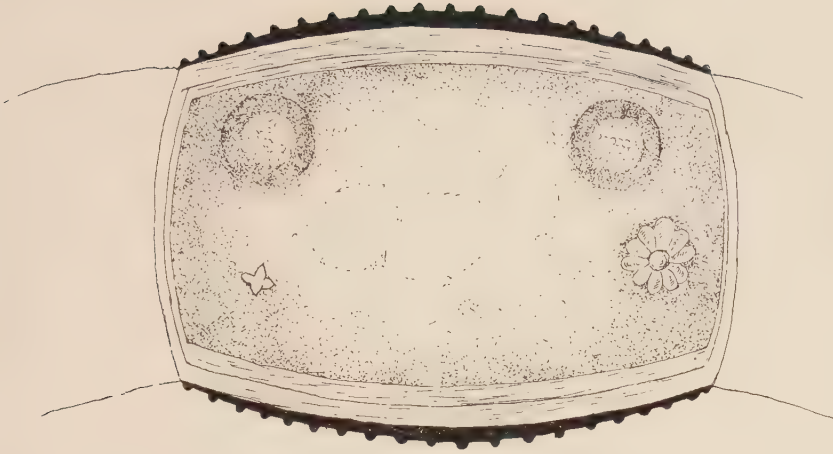
24



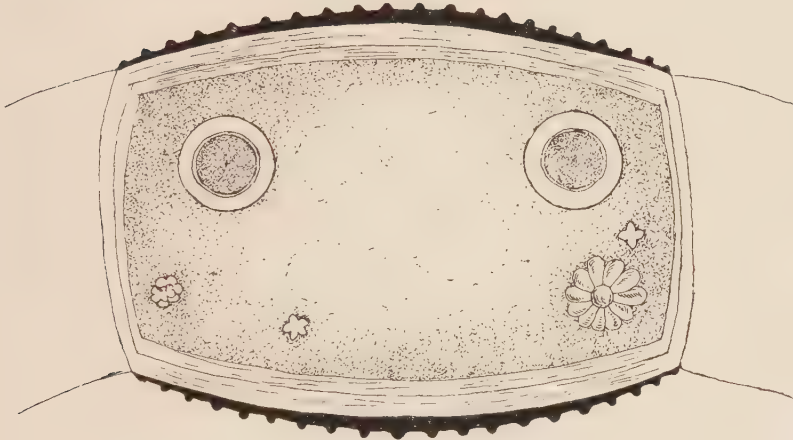
25



26



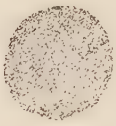
27



28



a



b



c

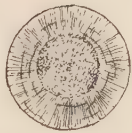
31



d



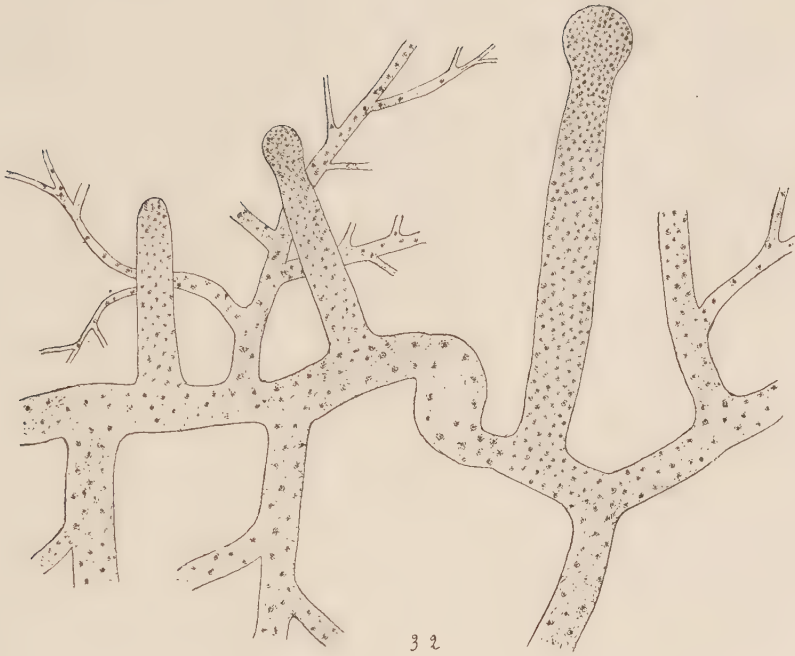
e



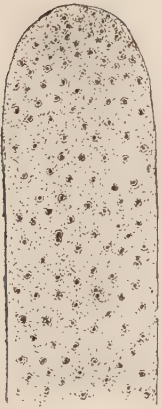
30



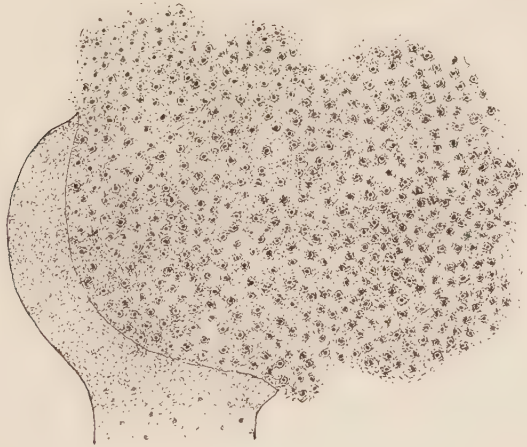
29



32



33



34

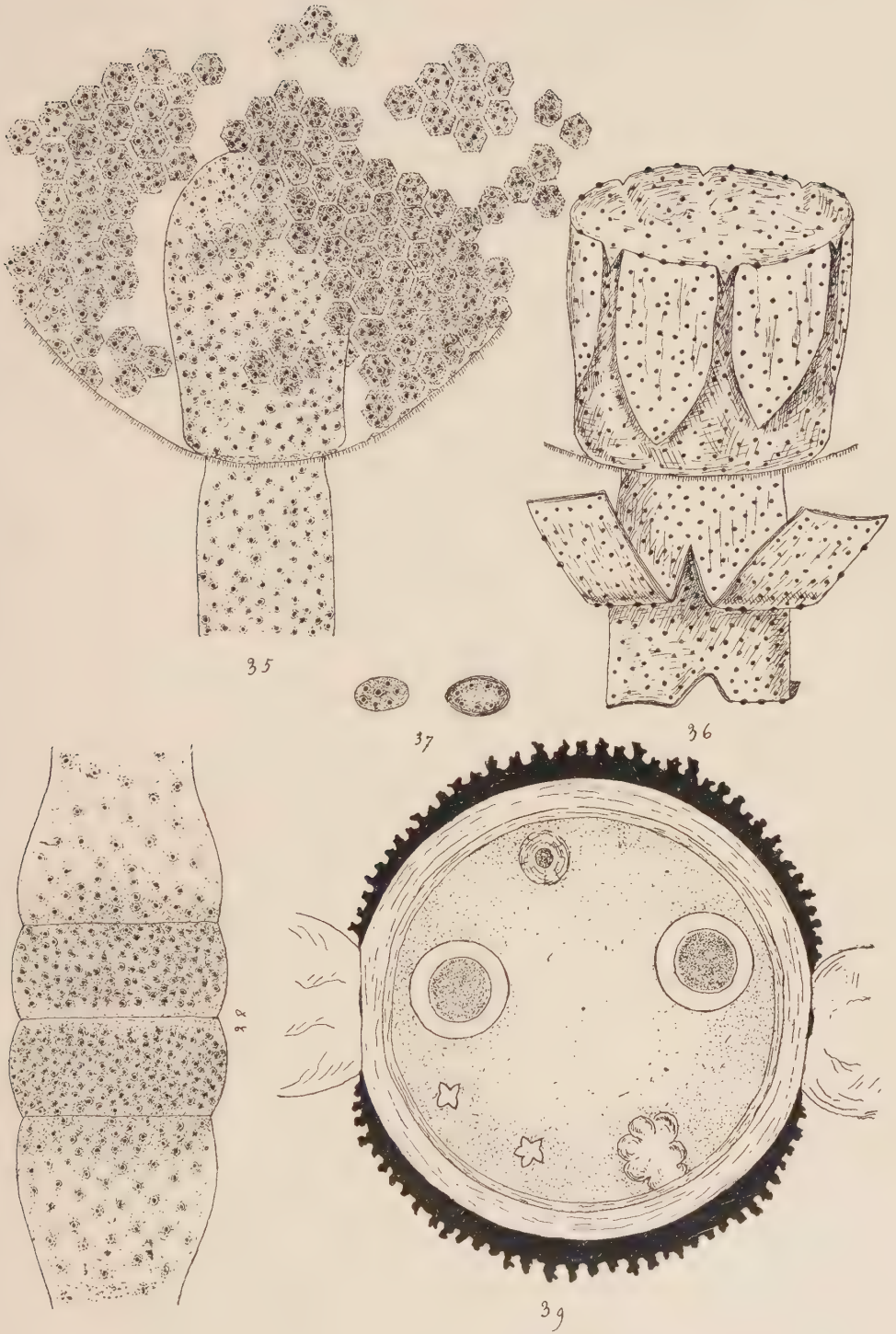


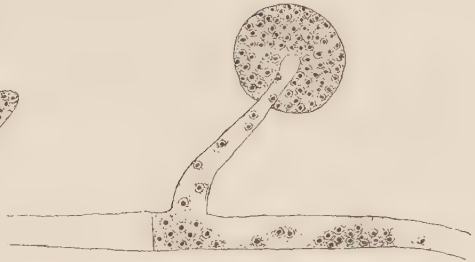
PLANCHE IX



40



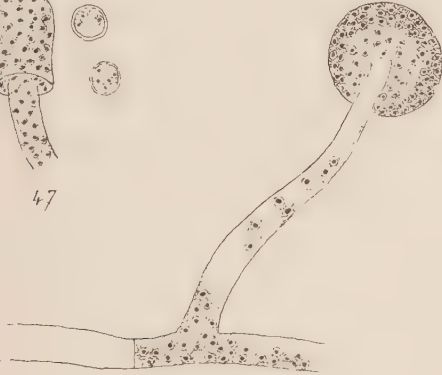
41



42



47



43



44



45



46



48



49



50



51



52

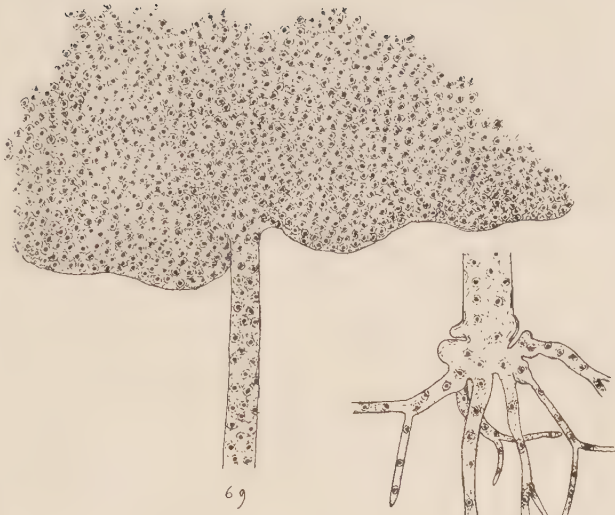
PLANCHE X



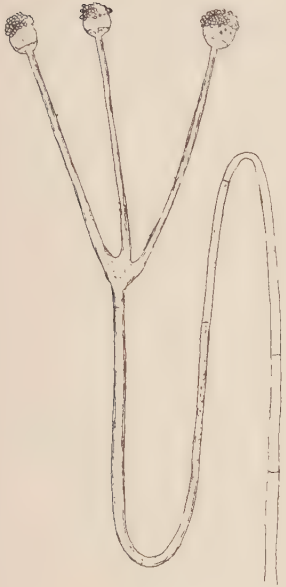
MAUR. LÉGER ad cam. luc. del.



65



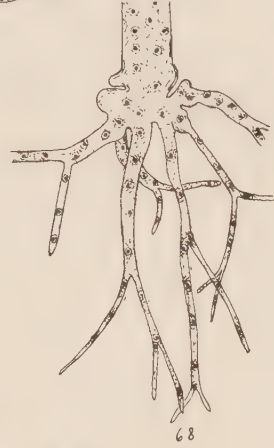
69



66



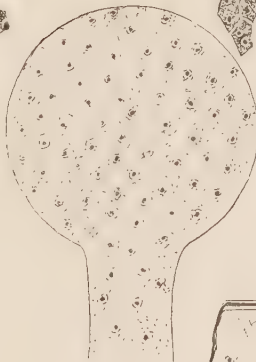
70



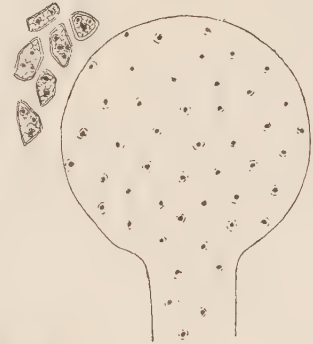
68



67



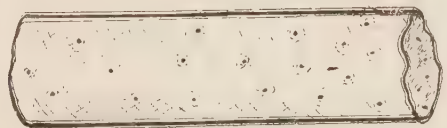
71



72



73



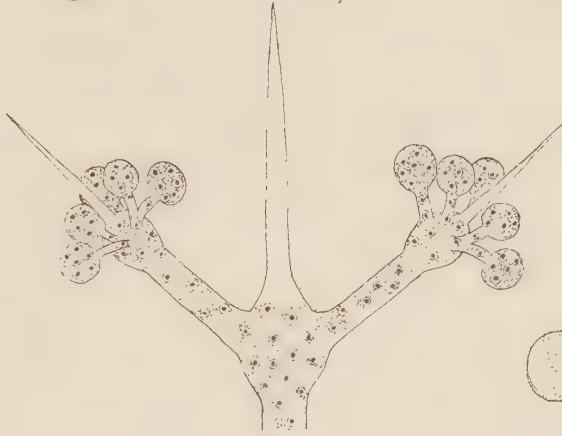
74



76



75



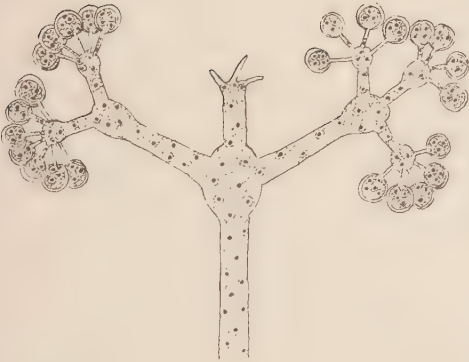
77



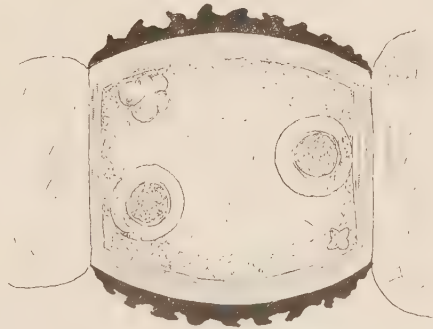
78



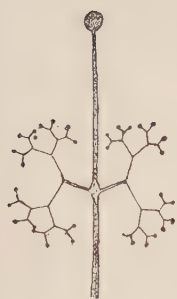
80



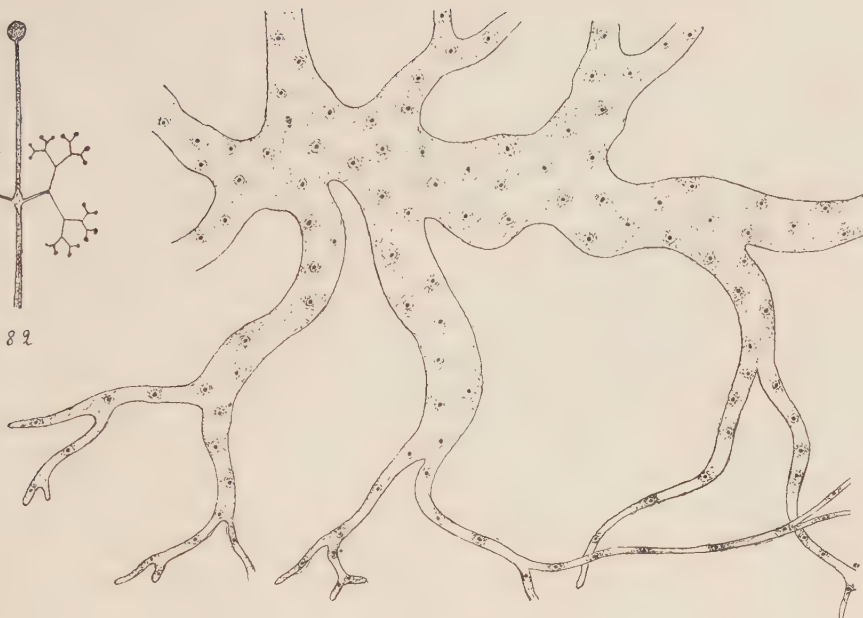
79



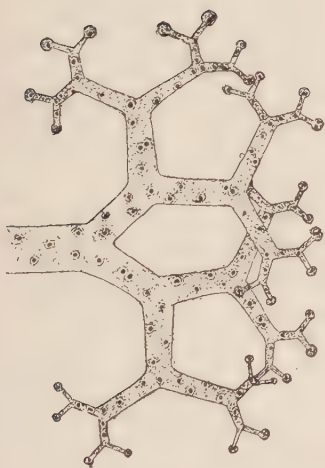
81



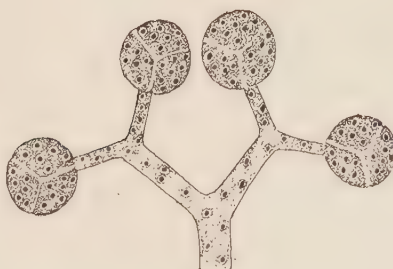
82



83



84



85



86



87



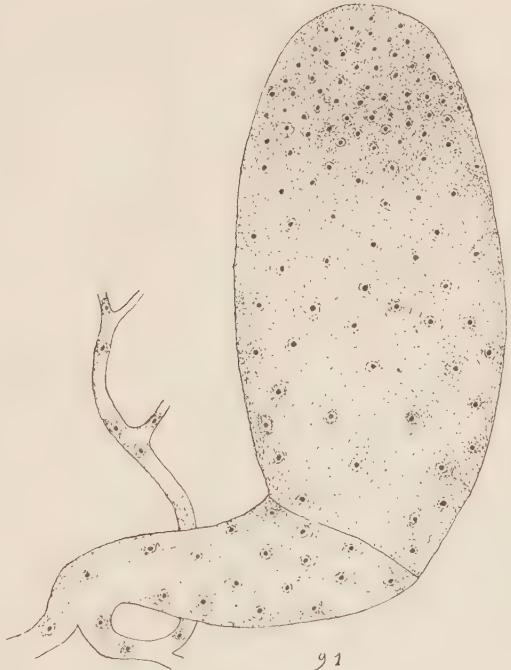
88



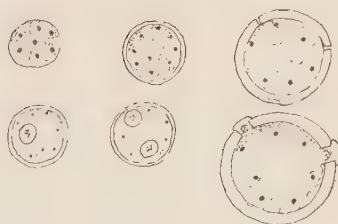
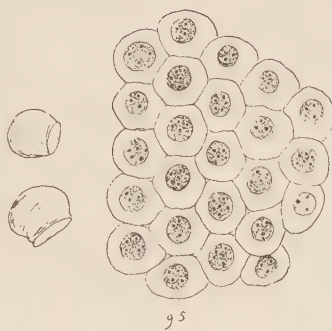
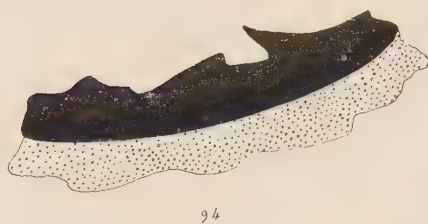
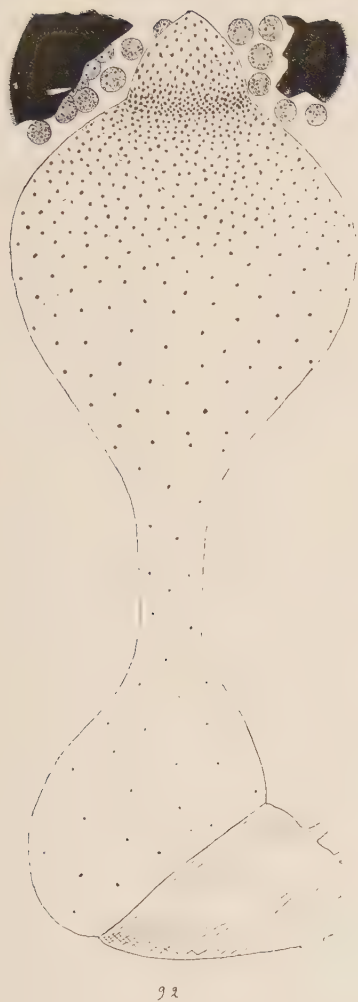
89

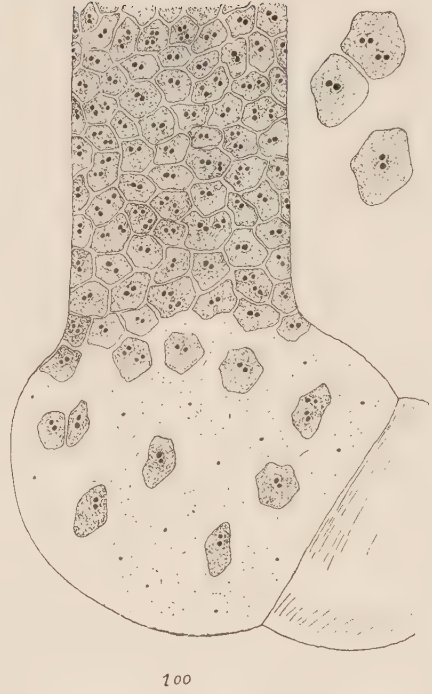
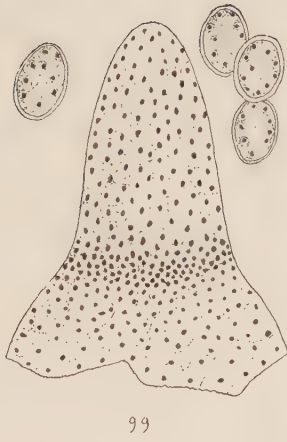


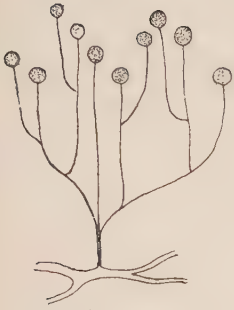
90



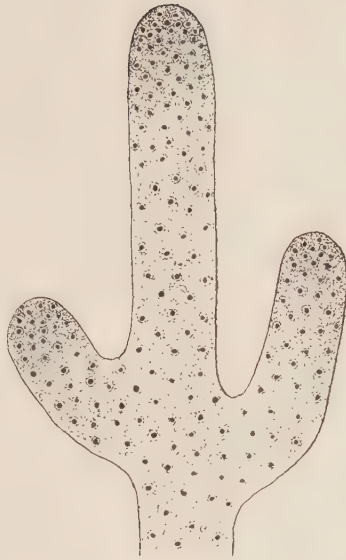
91







103



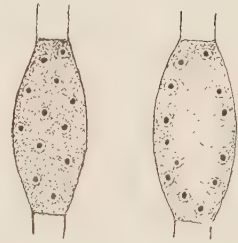
105



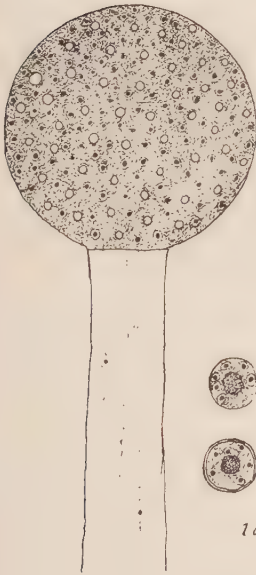
106



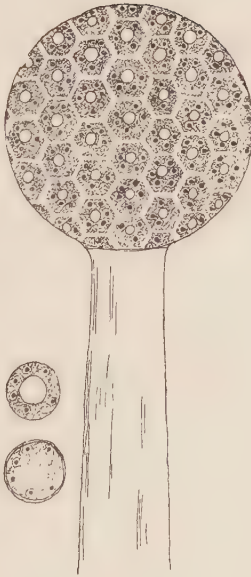
104



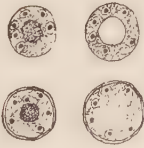
110



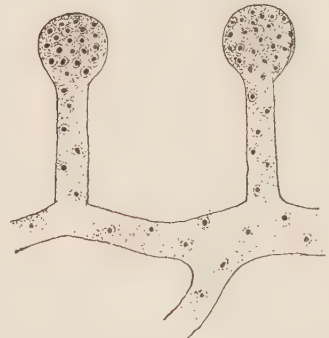
107



108



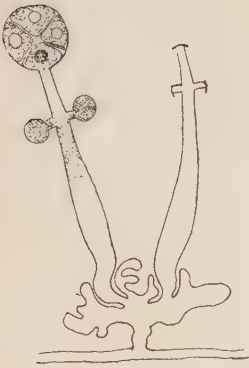
109



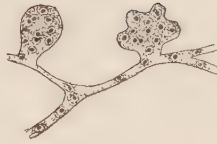
111



112



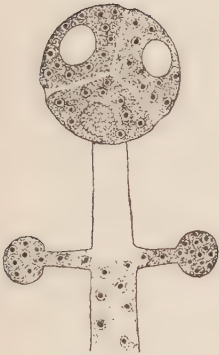
113



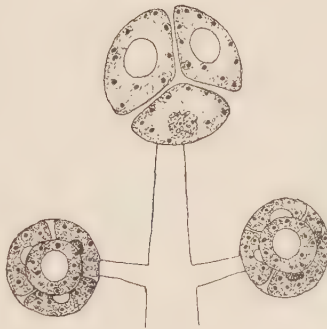
114



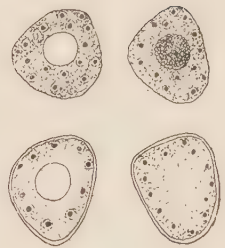
115



116



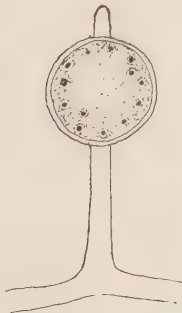
117



118



119



120

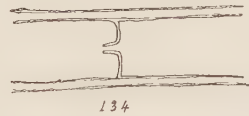
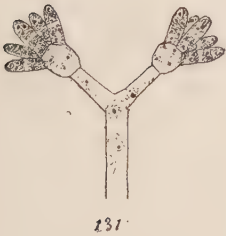
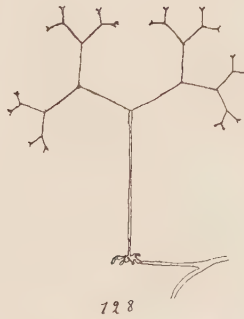
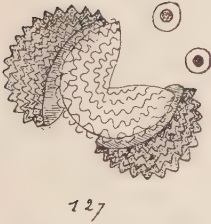
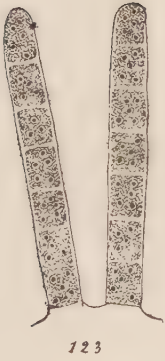
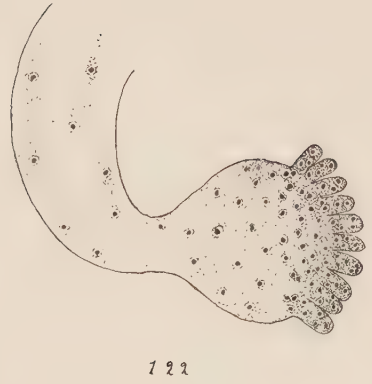
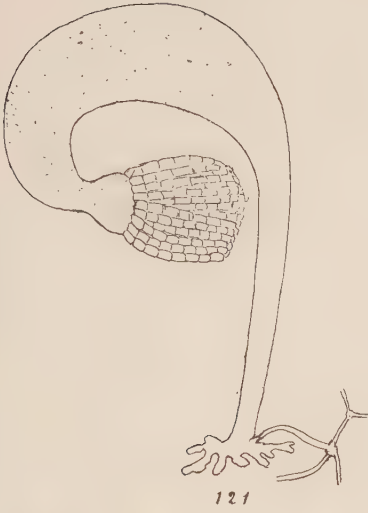


PLANCHE XX

